FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Années 1925-1926

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

HENRI LHOPITALLIER

Né à Paris, le 14 Mai 1897

ESSAIS D'AMINOACIDÉMIE PROVOQUÉE

PAR ADAPTATION DE LA

TECHNIQUE DE FOLIN

Président : M. MARCEL LABBE

PARIS

IMPRIMERIE PAUL DUPONT

4, RUE DU BOULOI (1er Arrt)

—

1926

LE DOYEN. . . M. ROGER.

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL.
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECÈNE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	Léon BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Clinique médicale	GILBERT. BEZANÇON. ACHARD. WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. HARTMANN. LEJARS. GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE. BRINDEAU. JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Professeur sans chaire	ROUVIÈRE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
ABRAMI.....	Pathologie médicale.
ALGLAVE.....	Pathologie chirurgicale.
AUBERTIN.....	Pathologie médicale.
BASSET.....	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN.....	Pathologie médicale.
BINET.....	Physiologie.
BLANCHETIÈRE.	Chimie biologique.
BRANCA.....	Histologie.
BRULÉ.....	Pathologie médicale.
CADENAT.....	Pathologie chirurgicale.
CHAMPY.....	Histologie.
CHIRAY.....	Pathologie médicale.
CLERC.....	Pathologie médicale.
DEBRÉ.....	Hygiène.
de JONG.....	Anatomie pathologique.
DUVOIR.....	Médecine légale.
FOCALLE.....	Obstétrique.
GIESSINGER.....	Pathologie médicale.
GOIX.....	Pathologie médicale.
GARNIER.....	Pathologie expérimentle.
HARVIER.....	Pathologie médicale.
HEITZ-BOYER...	Urologie.
HOVELACQUE...	Anatomie.

MM.	
JOYEUX.....	Parasitologie.
LABBÉ (Henri)...	Chimie biologique.
LARDENNOIS....	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER.....	Obstétrique.
LEMAITRE.....	Oto-rhino-laryngologie.
LÉVY-SOLAL.....	Obstétrique.
LHERMITTE.....	Pathologie mentale.
LIAN.....	Pathologie médicale.
MATHIEU.....	Pathologie chirurgicale.
METZGER.....	Obstétrique.
MOCQUOT.....	Pathologie chirurgicale.
MONDOR.....	Pathologie chirurgicale.
MOURE.....	Pathologie chirurgicale.
MULON.....	Histologie.
PHILIBERT.....	Bactériologie.
RIBIERRE.....	Pathologie médicale.
RICHET Fils.....	Physiologie.
TANON.....	Pathologie médicale.
VAUDESCAL.....	Obstétrique.
VERNE.....	Histologie.
VILLARET.....	Pathologie médicale.
VELTER.....	Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
DUGEROT.....	Pathologie médicale.
JÉNIOT.....	Obstétrique.

M. RETTERER..	Histologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.	
AUVRAY.....	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU.....	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE..	Clinique médicale.
LEREBOULLET..	Clinique médicale infantile.

MM.	
LÉRI.....	Clinique médicale.
LŒPER.....	Clinique médicale.
PROUST.....	Clinique chirurgicale.
RATHERY.....	Clinique médicale.
SCHWARTZ.....	Clinique chirurgicale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé.....	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY.....	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT.....	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD.....	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertions qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur Marcel LABBÉ

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur MÉNÉTRIER

Hommage de très respectueuse affection
et de reconnaissance.

A Monsieur le Docteur M.-F. Nepveux

Chef de Laboratoire à la Faculté

En témoignage de mon affection et de ma gratitude.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Monsieur le Professeur QUÉNU

Monsieur le Professeur WIDAL

Monsieur le Professeur MÉNÉTRIER

Monsieur le Docteur CAUSSADE

Monsieur le Docteur MAUCLAIRE

Monsieur le Docteur PARMENTIER

Monsieur le Professeur COUVELAIRE

Monsieur le Docteur HUDELO

Meis et Amicis

INTRODUCTION

Au cours de ces dernières années, l'étude du métabolisme des hydrates de carbone a été poursuivie avec le plus grand soin et actuellement notre connaissance de ce métabolisme et des divers troubles qu'il peut présenter est des plus complètes.

Au contraire, les transformations subies par les albuminoïdes au sein de notre économie laissent encore place à de nombreuses obscurités. Certes, au point de vue physiologique, de nombreux travaux ont été publiés sur les acides aminés, mais en pathologie, à part quelques articles parus sur des points particuliers, aucune étude d'ensemble n'a été entreprise. Dans un article de 1911 *paru dans* la Biologie médiacle, *Delaunay avait montré tout l'intérêt de la question et l'utilité qu'il y aurait à l'étudier chez l'homme.*

En 1913, *Bith tentait cette étude mais devant la faiblesse du taux des acides aminés dans le sang il renonçait à mesurer l'amino-acidémie et abordait le problème par le dosage du groupement* NH^2 *dans l'urine.*

Il était donc logique de tenter de reprendre la question en s'adressant, non plus à l'urine, mais au sang.

C'est ce que nous avons essayé sur les conseils de notre éminent Maître le Professeur Marcel Labbé.

La première partie de notre ouvrage a été consacrée à un bref exposé sur les acides aminés et leur rôle dans le métabolisme azoté.

Dans une deuxième partie, après avoir rappelé les aléas et les longueurs des diverses techniques, nous avons étudié la méthode de Folin et exposé les difficultés rencontrées au cours de son application. Ces difficultés tiennent aux désalbuminants, aux influences de l'alcalinite et de l'indicateur coloré, à l'ancienneté du sérum, à l'action même de l'oxalate de soude.

Enfin, dans une troisième partie, nous avons tenté d'explorer les troubles du métabolisme de l'azote aminé par l'adaptation de la méthode de Folin à une nouvelle technique d'amino-acidémie provoquée. Nous l'avons appliquée chez des sujets normaux, des diabétiques et des hépatiques.

Mais avant d'aborder notre sujet nous tenons à apporter ici un hommage respectueux de reconnaissance au Professeur Marcel Labbé pour la bienveillance qu'il nous a témoignée en nous ouvrant les portes de son laboratoire et de son service. Nous remercions également Monsieur Nepveux qui nous a guidé amicalement dans nos travaux, orientant nos recherches et nous éclairant toujours de ses précieux conseils.

ESSAIS
D'AMINOACIDÉMIE PROVOQUÉE
PAR ADAPTATION DE LA
TECHNIQUE DE FOLIN

PREMIÈRE PARTIE

Les Acides aminés.
Leur rôle dans le métabolisme azoté

Les acides aminés sont des corps chimiques contenant deux fonctions opposées, une fonction acide et une fonction basique ou aminée, qui, sans entrer en combinaison, sont placées côte à côte, séparées par un atome de carbone, auquel est fixé un radical différent suivant l'acide aminé considéré. La plupart d'entre eux sont neutres au tournesol. Leur particularité la plus intéressante est de conserver la possibilité de se combiner avec les acides par leur amine et avec les bases par leur groupement COOH, tout en gardant leurs propriétés.

Ces acides aminés forment les molécules élémentaires des matières protéiques; ils constituent 70 % de leur poids, aussi jouent-ils un rôle primordial dans le métabolisme des albuminoïdes.

Introduites dans le tube digestif les protéines sont transformées par les ferments, d'abord en polypeptides, puis, finalement, en acides aminés. Il leur faut arriver à cette forme ultime de dégradation pour pénétrer dans la circulation sanguine. Le foie peut alors soit les arrêter soit les laisser passer dans la circulation générale ou ils vont se combiner pour reconstituer de nouveaux tissus.

D'autre part dans la désassimilation quotidienne et dans les amaigrissements pathologiques les albumines corporelles mises en liberté sont transformées *in situ* par les ferments spéciaux en acides aminés qui sont en partie détruits sur place ou par le foie.

A toutes les étapes par lesquelles passent les matières protéiques on retrouve donc les acides aminés.

Or étant donné que l'organisme utilise soigneusement jusqu'à la moindre parcelle des éléments hydrocarbonés et que, tout au moins à l'état normal, il ne s'en élimine pas comme déchets, on s'attendrait donc logiquement à ce que les acides aminés, jouant un rôle important dans l'économie, ne puissent également se retrouver dans les excrétas. Il n'en est rien, nous éliminons par les reins une quantité minime de ces matériaux. La recherche de l'amino-acidurie peut donc servir à étudier la valeur du métabolisme azoté : son augmentation indique toujours, soit des destructions tissulaires exagérées, soit une incapacité fonctionnelle du foie à désintégrer les grosses molécules d'aminoacides.

Bith fait remonter l'hyperaminoacidurie pathologique à trois grandes causes :

a) L'incapacité des tissus pour fixer l'oxygène provoquant l'acidose qui entraîne secondairement l'aminoacidurie.

b) L'hyperalbuminolyse des tissus.

c) *L'insuffisance aminoacidolytique du foie.* Cette fonction aminoacidolytique vient d'être formellement niée par Folin et Bergblund en tant que fonction spécialement réservée au foie. Ces auteurs confessent néanmoins un certain pouvoir régulateur de cet organe sur le passage des acides aminés dans le sang. Nous citons ici leur opinion parce que c'est au service de cette théorie qu'ils ont mis au point la technique de dosage de l'azote aminé du sang dont nous nous sommes nous-même servi.

L'aminoacidolyse, fonction capitale du foie (selon la conception de Conheim qui ramène toutes les matières protéiques à l'état d'acides aminés), reste néanmoins la conception classique. Elle semble en effet prouvée par le rapport qu'il y a entre les ingestions de protéiques et les excrétions d'urée, par la formation de glycogène où de corps acétoniques, enfin par l'aminoacidurie des chiens à qui l'on fait une fistule d'Eck.

Cette fonction aminoacidolytique est d'autant plus primordiale qu'elle s'exerce, non seulement sur les albumines d'origine exogène, mais encore sur les albumines tissulaires qui, désintégrées par autolyse, subissent finalement la même évolution que les albumines étrangères. On voit l'importance de cette fonction de désamination qui fait jouer au foie vis-à-vis des albumines un triple rôle :

1° Un rôle antitoxique (formation d'urée);

2° Un rôle de réserve et un rôle oxydant (formation de glycogène de corps acétoniques);

3° Un rôle régulateur : le foie brûle ou transforme l'excès des protéiques alimentaires par l'intermédiaire des aminoacides.

Quant à la première des trois grandes causes d'hyperaminoacidurie *(incapacité des tissus pour fixer l'oxygène)* elle s'explique en ce que normalement dans les produits de désamination il y a des acides cétoniques qui doivent être brûlés.

Or, pour que cette combustion se produise il y a besoin d'oxygène. Si l'oxygène manque, les acides non comburés provoquent de l'acidose; ils se saturent avec la fonction basique des aminoacides.

Pour diminuer l'acidose les acides aminés traversent le foie tels quels et l'aminoacidurie apparaît.

Les travaux de Folin et Bergblund ont démontré chez le sujet normal un parallélisme remarquable entre l'excrétion des acides aminés urinaires et leur taux dans le sang; par contre les chiffres donnés par Bock très élevés dans le sang des urémiques et dans les cas de cardio-néphrite montrent le rôle profond du parenchyme rénal sur l'excrétion de l'azote aminé. Voici quelques-uns de ces chiffres : 299 mg. (urémie) 175 mg. (cardio-néphrite) 151 mg. (néphrite) 112 mg. (néphrite) 111 mg. (urémie) 109 mg (néphrite) 104 mg. (cirrhose) 90 mg. (néphrite) 83 mg. sujet normal et parmi ces chiffres les plus faibles 84 mg. (néphrite) 57 mg. (cancer du foie).

Il importe donc de reprendre la question en s'adressant non plus à l'urine mais au milieu même au sein duquel s'opère les échanges azotés : le sang. La difficulté à laquelle on se heurte alors réside dans la proportion tout à fait minime d'azote aminé contenu dans le plasma et dans l'insécurité des méthodes permettant de la mesurer.

DEUXIÈME PARTIE

Les méthodes de dosage : Etude critique de la méthode de Folin.

CHAPITRE PREMIER

LES MÉTHODES

Les méthodes pour doser les amino-acides sont généralement longues et minutieuses; elles comportent toute une succession de manipulations préliminaires :

a) Destruction de l'urée.

b) Désalbumination.

c) Élimination de l'ammoniaque par la soude.

d) Concentration dans le vide.

L'azote restant est attribué aux acides aminés. Il est dosé, soit par la méthode de Kjeldahl, soit encore par la méthode volumétrique. Parmi ces méthodes citons :

1° *La méthode volumétrique de Van Slyke.* Elle consiste à emprunter l'action oxydante de l'acide azoteux sur les groupements aminés, pour les transformer suivant la formule :

$$RNH^2+HNO^2=ROH+N^2+H^2O$$

C'est à cette méthode que sont dus exclusivement les chiffres publiés par les auteurs américains. Outre les temps préliminaires elle comporte l'emploi d'un appareil d'une extrême complexité et dont la manipulation exige un véritable entraînement; les chiffres primitivement publiés par Van Slyke ont été un peu bas par suite d'une désalbumination défectueuse à l'alcool méthylique (qui fait perdre jusqu'à 30 % des acides aminés par adsorption dans le coagulum). La plupart des auteurs (Okada, Bock, Petitjean) abandonnèrent cette défécation pour adopter l'acide trichloracétique. L'acide tungstique fut généralement délaissé parce qu'il gênait la concentration.

2° *La méthode de Bang*, microméthode d'un principe tout différent. L'urée est éliminée par l'alccol éther puis les matières azotées sont reprises dans l'acide phosphomolybdique : on dose l'azote par la méthode de Kjeldahl. Les résultats, après titration iodométrique, sont exprimés en azote.

3° Un troisième type de méthode consiste à adapter au filtrat trichloracétique sanguin, *la formol titration de Ronchèse.* La neutralisation est opérée en gamme à l'aide de solutions alcalines de plus en plus diluées. Lesure opère la titration finale à l'aide de solutions centinormales. En dépit de son apparente simplicité cette méthode est une des plus délicates et nécessite de constants réajustements de solutions aussi diluées.

4° Folin au contraire nous a donné une technique d'une grande simplicité. Elle est basée sur la coloration rouge qui prend naissance par la combinaison de l'acide B naphtoquinonesulfonique avec le groupement AzH^2 des acides aminés dans des conditions un peu particulières d'alcalinite. On opère parallèlement sur un standard et sur le liquide à doser et on porte au colorimètre.

Ces divers procédés semblent converger vers le chiffre moyen de 70 à 80 mg. par litre (pour le plasma) mais *l'ensemble des dosages publiés est des plus variables* puisque nous y relevons des chiffres allant de 20 mg. (Van Slyke) à 1150 mg (Feigl et Luce, cas exceptionnel d'atrophie jaune aiguë du foie).

CHAPITRE II

IMPORTANCE DE LA DÉSALBUMINATION

Devant la diversité de ces chiffres, devant notre répugnance personnelle à admettre dans le sang des variations mêmes pathologiques d'un tel ordre nous nous sommes demandé si des nombres si divers ne provenaient pas de précipitations accidentelles dues au déféquant ou de phénomènes d'adsorption entre les protéiques et les aminoacides du sang. Ces phénomènes pourraient varier dans des limites étendues. Cette hypothèse est logique si l'on pense aux travaux de Delaville qui ont démontré à quel point l'adsorbtion peut être considérable pour l'acide urique. Or, les aminoacides voisins de la molécule protéique et présentant sans doute avec elle des points isoélectriques rapprochés, semblent désignés pour subir, au premier chef, ces phénomènes de précipitation accidentelle lors de la défécation.

La question de la désalbumination devient ainsi vraiment primordiale si les divers désalbuminants sont susceptibles de fixer ou de laisser filtrer des proportions d'azote aminé extrêmement variables avec chacun d'eux.

Dans son étude sur la désalbumination du sang, Cristol étudie longuement la question. Cet auteur s'est servi de la technique de Folin. Il la déclare très commode et très précise; elle semblerait avoir donné dans ses mains de remarquables résultats.

Cristol mesurant les acides aminés sur une solution de peptone de caséine a trouvé 1 gr. 33 en déféquant à l'acide trichloracétique et 0 gr. 780 en déféquant à l'acide tungstique. Nous aurions une tendance à interpréter ces chiffres comme étant dus à la fixation par l'acide tungstique des acides aminés à grosses molécules que l'acide trichloracétique laisse passer. Telle n'est pas l'opinion de Cristol. Il explique ce déchet par un phénomène d'adsorption provoqué par la concentration du milieu en azote aminé. En effet ses essais sur des sérums humains — en opposition formelle avec l'expérience précitée — ont démontré l'identité absolue de l'azote aminé des filtrats d'un même sérum, que ces filtrats soient tungstique ou trichloracé-

tique. Il donne à cet égard deux tableaux remarquables par la précision des chiffres obtenus et sa conclusion est des plus nettes : « Dans les limites extrêmes de l'aminoacidémie physio-« logique ou pathologique, l'adsorption des acides aminés dans « le coagulum de désalbumination est nul pour tous les désalbu-« minants et toutes les acidités. »

Cette opinion est partagée par Labbé et Debre, Labbé et Bith; ils constatent que les acides aminés ne sont pas précipités par les divers désalbuminants.

D'après eux un échantillon d'aminoacides traité par un désalbuminant et un autre échantillon témoin non traité contiennent la même quantité d'azote aminé. Par contre Marcel Labbé constate dans une désalbumination à l'acide trichloracétique une perte de 23 %. Dans d'autres expériences la perte varie entre 15 et 30 %.

Quant à nous, nous formulons quelques réserves sur cette opinion de Cristol pour les raisons suivantes : 1° Ses expériences sur le sérum humain sont en contradiction formelle avec celles tentées par lui-même sur des solutions de caséine;

2° Nous avons nous même opéré des dosages avec les deux déféquants or nos résultats à l'acide trichloracétique ont été constamment plus élevés que ceux fournis par l'acide tungstique et ce dans le même rapport de 1,7 existant entre les chiffres de 78 et de 133 trouvés par Cristol sur la caséine.

3° Bock qui a tenté des dosages d'acides aminés en désalbuminant avec de l'acide trichloracétique à 3 % et filtration sur kaolin trouve des chiffres encore comparables aux nôtres bien que légèrement inférieurs (ce que nous pouvons attribuer à l'adsorption due au kaolin).

Personnellement nous avons adopté d'abord la défécation à l'acide tungstique, puis ensuite la défécation à l'acide trichloracétique. Nous nous sommes servi de la technique de Folin et nous pensons ici devoir la citer textuellement car elle est peu connue.

CHAPITRE III

LA MÉTHODE DE FOLIN

Le sang prélevé par ponction veineuse est additionné d'un peu d'oxalate de soude pur et soigneusement agité.

5 cm³ de plasma sont alors additionnés de 5 cm³ d'SO^4H^2 $\frac{2N}{3}$ et de 5 cm³ de tungstate de soude à 10 %. On complète le volume à 50 cm³ avec de l'eau distillée, on agite.

Une demi-heure après au minimum on filtre, on procède alors au dosage.

« Comme on peut avoir plusieurs dosages sur le filtrat sanguin-
« acide tungstique il importe de ne pas employer plus de liquide
« qu'il ne faut par dosage. 5 cm³ sont suffisants ici mais si le
« filtrat est abondant 10 cm³ rendent la manipulation plus
« commode. Dans un tube à essais de 30 à 35 cm³ de capacité
« mettre 1 cm³ de la solution standard de glycine représentant
« 0 mg. 07 d'azote et ajouter 3 cm³ d'eau.

« Dans un autre tube analogue ajouter 5 cm³ de filtrat san-
« guin. Ajouter dans chaque tube une goutte de phénolphta-
« léine à 0,25 % ajouter 1 cm³ de carbonate de soude à 1 %
« dans le standard et ajouter soigneusement goutte à goutte
« assez de CO^3NA^2 à 1 % au filtrat sanguin jusqu'à ce qu'il
« ait approximativement la même couleur que le standard
« (3 à 4 gouttes sont généralement suffisantes). Au standard
« ajouter encore 5 cm³ d'eau : le volume du standard doit être
« double de celui du filtrat sanguin. Préparer alors une solution
« fraîche de B naphtoquinonesulfonate de soude à 0,5 %
« ajouter 2 cm³ de cette solution au standard et 1 cm³ au filtrat
« agiter un peu pour homogénéiser et placer dans l'obscurité
« complète jusqu'au jour suivant c'est-à-dire 19 à 30 heures.

« Au bout de ce temps ajouter la solution acide acétique-
« acétate, 2 cm³ au standard et 1 cm³ à l'X à doser. Finalement
« ajouter avec une pipette pour sang 14 cm³ d'eau au standard,
« ce qui fait un volume total de 30 cm³, et 7 cm³ à l'X à doser,
« ce qui fait un volume final de 15 cm³.

« Agiter chaque mélange et comparer au colorimètre le « standard étant à 20 millimètres. 140 divisé par la lecture « colorimétrique donne l'azote de l'aminoacide en milligrammes « pour cent de sang (5 cm³ de filtrat sanguin correspond à « 0 cm³ 5 de sang.) »

Préparation des solutions

Solution standard aminoacide. — « Elle doit contenir 0 mg 07 « d'azote par centimètre cube. Il semble plus commode d'avoir « une solution mère à 0 mg. 1 d'azote par centimètre cube. « La solution est faite avec de l'acide chlorhydrique décinormal « et du benzoate de soude à 0 gr. 2 %. On peut adopter : comme « aminoacide glycine acide glutamique leucine phénylalanine « tyrosine acide aspartique cystine.

« Folin utilise exclusivement la glycine mais il est absolu- « ment important de l'obtenir pure car les impuretés dans la « glycine contiennent de l'azote. La glycine aussi bien que « d'autres aminoacides peut être facilement recristallisée en la « dissolvant dans l'eau et en la précipitant par addition d'al- « cool.

« La coloration entre aminoacides et acide beta naphtoqui- « nonesulfonique se forme très lentement en milieu neutre : « en milieu alcalin (jusqu'à une certaine alcalinité) la coloration « se développe plus rapidement. Cependant les différents ami- « noacides ne présentent pas la même accélération pour une « alcalinité augmentée définie et la quinone est plus facilement « détruite en milieu trop alcalin donnant une coloration foncée « due aux produits de destruction.

« Le degré d'alcalinité exacte a donc été assez difficile à « trouver : la soude, la magnésie, les mélanges de diphosphate « et de triphosphate de soude, le diphosphate de soude seul « le pyrophosphate de soude, le borax, le bicarbonate et le « carbonate neutre de sodium ont été successivement essayés; « ce sont ces derniers sels qui ont finalement été adoptés.

Solution de carbonate de soude. — « La solution de carbonate « de soude est ainsi faite : 50 cm³ de solution approximativement « saturée sont étendus à 500 cm³. On titre cette solution à l'aide « d'acide chlorhydrique décinormal en présence de rouge de « méthyle comme indicateur. On doit alors diluer la solution

« de carbonate ainsi titrée de façon que 8 cm^3, 5 de cette solu-
« tion soient équivalents à 20 cm^3 d'acide décinormal. La solu-
« tion de carbonate de soude est d'environ 1 %.

« Le degré correct d'alcalinité est obtenu quand 1 cm^3 de
« cette solution de carbonate de soude est ajouté à 1 cm^3 de
« la solution d'acide aminé dans l'acide chlorhydrique décinor-
« mal. Par conséquent l'alcalinité est représentée par un
« mélange de carbonate et de bicarbonate. Une goutte de
« solution de phénolphtaléine doit toujours être employée,
« c'est indispensable quand on travaille avec des solutions
« d'acides aminés d'acidité inconnue et variable. Il est préfé-
« rable que l'alcalinité dans le standard et dans les solutions
« à doser soit approximativement la même, mais il n'est pas
« nécessaire de le faire très exactement. »

Solution de naphtoquinone. — « La solution d'acide B naph-
« toquinonesulfonique est graduellement décomposée et la solu-
« tion devient visiblement plus foncée au bout de quelques
« heures, surtout si on ne la tient pas dans l'obscurité. Pour cette
« raison on ne peut employer que des solutions fraîches, il est
« commode d'avoir en tubes bien propres des séries de 100
« ou 500 mg. de quinone sèche grossièrement pulvérisée, une
« variation en poids de 5 % n'a aucune importance. Mettre
« 100 mg. de quinone dans un petit flacon, y ajouter 20 cm^3
« d'eau, agiter; la solution se fait presque immédiatement. »

Solution spéciale acide acétique acétate. — « Diluer 100 cm^3
« d'acide acétique à 50 % avec un égal volume d'acétate de
« soude à 5 %. L'acétate de soude a deux buts : il augmente
« la couleur du dérivé quinone-amino-acide et il retarde le trouble
« dû à la libération de soufre provenant de la solution de thio-
« sulfate. »

Solution de thiosulfate de soude à 4 %. — « Cette solution est
« employée pour détruire l'excès de quinone restant après le
« développement complet de la coloration. Dans les conditions
« prescrites il n'a aucun effet sur le dérivé quinone-aminoacide.
« Les solutions à doser conservent leur coloration sans trouble
« une bonne heure. »

La quinone étant sensible non seulement aux groupements NH^2 mais encore à l'ammoniac *il reste bien entendu que, dans tout ce*

qui suivra, nous entendrons par azote aminé la somme azote NH^2 *+ azote ammoniacal.*

On pourrait se débarrasser de l'ammoniaque grâce au permutit; nous l'avons négligé afin de simplifier les manipulations. L'expérience prouve en effet que l'ammoniaque n'existe dans le sang qu'en minime quantité vis-à-vis de l'azote aminé.

De plus cette méthode ne peut fournir au clinicien de chiffres valables qu'à condition de manipuler dans les conditions extrêmement précises de Folin et nous aurons l'occasion de démontrer avec quelle minutie et quel soin on doit opérer si l'on veut éviter tout risque d'erreur.

Lors de nos déterminations les plus considérables, le demi centimètre cube de sang auquel correspondaient les 5 cm^3 de filtrat tungstique sur lesquels nous opérions contenait en effet de 4 à 5 centièmes de milligrammes d'azote aminé. Dans de telles conditions la plus minime erreur absolue entraîne une erreur relative considérable. Les lectures colorimétriques comportent à elles seules une cause d'erreur qui varie de 2 à 5 % en moyenne. Mais le plus fort écueil provient certainement du déféquant adopté par Folin. Lorsqu'on neutralise une solution tungstate de soude-acide sulfurique par une solution de carbonate de soude en présence de phtaléine il se forme un véritable tampon dû à la présence du système $\frac{\text{acide tungstique.}}{\text{tungstate de soude.}}$

Il s'ensuit que, durant une assez longue période, l'addition de gouttes de la solution alcaline influence peu l'acidité ionique du système. Ces équilibres se réalisent du reste avec une grande lenteur. Il en résulte ce fait : à chaque nouvelle goutte de carbonate de soude ajoutée, la liqueur prend une teinte rouge vif qui persiste un temps donné, puis disparaît brusquement. Plus on ajoute de carbonate de soude, plus la teinte persiste longtemps d'une part, et moins sa disparition s'opère brusquement d'autre part : de telle sorte qu'à un moment donné, il devient difficile de voir si la teinte faiblit parce que le système tampon joue encore ou bien parce que la phtaléine se décolore sous l'influence du temps comme elle se décolore toujours peu à peu secondairement en présence de l'acide tungstique.

Ayant pensé que ce phénomène était dû à la présence du carbonate, nous avons essayé la neutralisation avec une solution de soude : mais celle-ci donne naissance au même inconvénient.

Folin prétend qu'il n'est pas nécessaire d'alcaliniser très exactement au même degré le témoin et le sérum sur lequel on procède aux recherches. Ce sont pourtant ces variations accidentelles d'alcalinité qui ont apporté un des principaux écueils à notre travail. Cet écueil, et d'autres obstacles successifs nous ont entraîné dans plusieurs variations de détails. Ces variations ont elles-mêmes rendu nos résultats difficilement comparables entre eux en valeur absolue, et nécessitent pour chacune d'elle un exposé particulier.

Dans une première série d'expériences, notre technique a différé de celle de Folin en ce que nous avons opéré avec une solution de carbonate de soude au centième en négligeant de titrer celle-ci en présence de rouge neutre, comme l'indiquait l'auteur, nous obtenions ainsi :

a) au témoin une teinte rose pâle indiquant le voisinage de la neutralité;

b) nous recherchions alors l'apparition de la même teinte sensible sur le filtrat tungstique.

Mais cette teinte était ici difficile à obtenir par le fait de sa disparition plus ou moins rapide en *b* alors qu'elle restait stable pour le témoin *a*. Cette disparition provoquait l'addition d'un nombre variable de gouttes selon que nous opérions plus ou moins rapidement. Dans ces conditions nous avons obtenu les résultats consignés au tableau A de la page 34.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE L'ALCALINITÉ

Au cours de ces dosages ayant remarqué, d'une part, que l'alcalinisation agissait sur le système quinone-aminoacide en lui communiquant immédiatement une teinte foncée, et que, d'autre part, cette teinte variait avec le nombre de gouttes de carbonate de soude ajoutées, nous avons pensé que les résultats obtenus étaient influencés par le degré d'alcalinisation du filtrat. Nous avons constaté que sur un même filtrat la coloration du complexe acide aminé-quinone croissait avec le nombre de gouttes de solution alcaline ajoutée.

C'est alors seulement que nous avons procédé au titrage de notre solution de carbonate de soude, de façon que 8 cm³, 5 neutralisent 20 cm³ d'acide chlorhydrique décinormal, en présence de rouge neutre suivant la recommandation de Folin. Ce titrage nous a démontré que les conditions d'alcalinité où nous nous placions étaient défavorables. En effet la teinte obtenue après addition, à 1 cm³ de standard, d'un centimètre cube de la solution de carbonate de soude titrée est, non la teinte sensible aux environs du p H$^{7.6}$ mais une teinte franchement rose.

A l'aide de cette solution titrée nous avons pu préciser ce fait. La réaction colorée après avoir varié rapidement en intensité, au fur et à mesure que l'alcalinité croît, passe ensuite par un plateau. C'est seulement lorsque ce plateau est atteint que de légères variations d'alcalinité prennent une influence secondaire comme le déclare Folin.

Pour ce faire, nous avons placé dans 14 tubes à essais numérotés de 1 à 14 : d'abord 1 cm³ de solution standard à 7 centièmes de milligrammes, puis, successivement, à chacun, les quantités suivantes de solution titrée de carbonate de soude.

N° 1..... 0 cm³ 6	N° 6..... 0 cm³ 9	N° 11..... 1 cm³ 4
— 2..... 0 cm³ 65	— 7..... 1 cm³	— 12..... 1 cm³ 5
— 3..... 0 cm³ 7	— 8..... 1 cm³ 1	— 13..... 1 cm³ 6
— 4..... 0 cm³ 75	— 9..... 1 cm³ 2	— 14..... 1 cm³ 7
— 5..... 0 cm³ 8	— 10..... 1 cm³ 3	

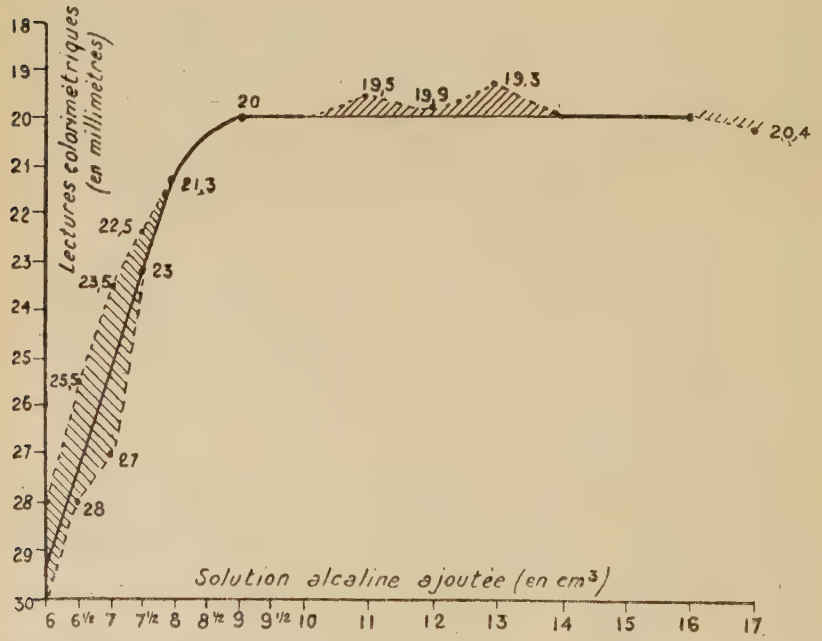
Ayant terminé pour chaque tube l'opération comme avec un standard normal, nous avons pu lire les chiffres suivants, au colorimètre, en plaçant à 20 mm. le standard contenant 1 cm³ de CO^3Na^2.

0cc,6	30mm	0cc,7	27mm	0cc,8	21,3	1cc	20mm	1cc,2	19mm,9	1cc,4	20mm	1cc,6	20mm,4
0cc,65	28mm	0cc,75	23mm	0cc,9	20	1cc,1	19mm,5	1cc,3	19mm,3	1cc,5	20mm	1cc,7	20mm

Nous avons recommencé une deuxième série d'observations pour la partie ascendante de la courbe donnant lieu aux lectures suivantes :

0 cc. 6 : 28 mm. | 0 cc. 7 : 23 mm. 5 | 0 cc. 8 : 21 mm. 3
0 cc. 65 : 25 mm. 5 | 0 cc. 75 : 22 mm. 5

Ce qui nous a permis d'établir la courbe où sont portées en abscisse les lectures colorimétriques (exprimées en millimètres) et en ordonnées les quantités de solution alcaline titrée ajoutées (exprimées en cm³).



La teinte ombrée séparant les deux courbes correspond aux erreurs de lecture.

Nous avons alors repris nos expériences sur le sérum.

Expérience A (sérum très fortement oxalaté). — Alcalinisant 3 tubes T T' T'' contenant chacun 5 cm³ de filtrat tungstique, T avec 1 cm³ 5, T' avec 1 cm³ 6, T'' avec 1 cm³ 7 de la solution de carbonate de soude titrée, nous avons terminé l'opération suivant la technique de Folin. Contrairement à notre attente nous ne nous sommes pas alors trouvé en présence du plateau colorimétrique que semblait faire prévoir notre courbe précédente, les tubes TT' ont présenté en outre une teinte orangée rouge intense et qui rendait impossible leur comparaison avec le standard. Nous avons recommencé l'expérience avec le même résultat. L'expérience A nous montre qu'il faut se garder d'opérer à une trop forte alcalinité.

Expérience B (sérum non oxalaté). — Nous avons procédé à l'essai suivant :

Sur un même sérum :

B′ d'une part :	B″ d'une part :
Nous avons alcalinisé au voisinage du $PH^{7,5}$ 2 standards;	Nous avons alcalinisé 2 standards par 1 cm³ de CO^3Na^2;
D'autre part :	D'autre part :
Nous avons alcalinisé 3 tubes F, F′, F″ contenant chacun 5 cm³ de filtrat tungstique en dépassant le $PH^{7,5}$ de I, II, III gouttes de CO^3Na^2.	Nous avons alcalinisé 3 tubes G, G′, G″ contenant chacun 5 cm³ de filtrat tungstique avec XV, XVI, XVII gouttes de CO^3Na^2 (teintes comparables à celles du Standard).

Terminant l'opération selon la technique de Folin, nous avons porté au colorimètre :

Pour B′ nous avons trouvé deux teintes différentes aux standards, de plus les tubes F, F′, F″ avaient tous trois une couleur différente;

Pour B″ nous avons trouvé : 2 standards identiques, 3 tubes sensiblement comparables et donnant 73 milligrammes d'azote aminé par litre.

En contradiction formelle avec l'expérience A, l'expérience B semble confirmer l'existence du plateau colorimétrique pour le sérum : il faut donc se placer en milieu fortement alcalin dépassant la neutralité de $\frac{3}{10}$ cm³ de solution de carbonate environ.

Quelles différences existent entre les conditions expérimentales de A et de B?

Le plasma de A était ancien et fortement oxalaté. Le sérum

de B, prélevé par ventouse, était au contraire récent et non oxalaté. De plus, le filtrat tungstique de A était neutralisé par 20 gouttes de carbonate de soude, le filtrat tungstique de B étant neutralisé par 6 gouttes de carbonate de soude. La teinte rouge orangée, donnant aux lectures des chiffres inacceptables, peut-elle être imputée à l'ancienneté du sérum? Partiellement sans doute; nous l'avons pourtant imputé principalement à l'addition au sang mis en expérience d'un fort excès d'oxalate de soude.

CHAPITRE V

ACTION DE L'OXALATE DE SOUDE

Afin de le vérifier nous avons additionné des standards successivement avec un ½, 1, 2, 3, 4, 5 cm³ d'une solution à 1/600 d'oxalate de soude sans obtenir une teinte différant de celle du témoin. L'oxalate n'agit donc pas directement sur le complexe acide aminé-quinone. L'oxalate a pourtant une action sur le sérum :

Expérience C. — Soit 2 ballons G et G' de 20 cm³ de capacité. Nous avons successivement mesuré :

Dans G :	Dans G' :
2 cm³ de sérum âgé de plusieurs jours.	2 cm³ du même sérum.
2 cm³ d'SO^4H^2 $\frac{2\,N}{3}$	2 cm³ de la même sol. SO^4H^2 $\frac{2\,N}{3}$
2 cm³ de sol. tungstique.	2 cm³ de sol. tungstique + une pincée d'oxalate de Na *neutre*.

On complète chacun de ces ballons à 20 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre.

5 cm³ filtrat de G + 1 gtte phtaléine + X gttes sol. titrée de CO^3Na^2 = neutralité.

5 cm³ filtrat de G + 1 gtte phtaléine + IL gttes sol. titrée de CO^3Na^2 = neutralité.

La présence d'un excès d'oxalate neutre augmente donc l'acidité du filtrat tungstique.

Expérience D. — Soit 2 ballons H et H' de 20 cm³.
Nous avons successivement mesuré :

Dans H :	Dans H' :
2 cm³ de sérum récent.	2 cm³ de sérum récent.
2 cm³ d'SO^4H^2 $\frac{2\,N}{3}$	2 cm³ d'SO^4H^2 $\frac{2\,N}{3}$
2 cm³ de sol. tungstique.	2 cm³ de sol. tungstique + des traces d'oxalate de soude.

On filtre.

5 cm³ filtrat de H + 1 gtte phtaléine + IX gouttes sol. CO^3Na^2 = neutralité.

5 cm³ filtrat de H′ + 1 gtte phtaléine + IX gttes sol. CO^3Na^2 = neutralité.

Des traces d'oxalate agissant sur sérum frais n'influent pas sur l'acidité du filtrat.

Expérience E. — Dans 4 tubes à essais J, J′, J″, J‴ de 15 cm³ chaque on met :

Dans J et J′ 5 cm³ de filtrat tungstique provenant du ballon G (expérience C sang non oxalaté).

Dans J″ et J‴ 5 mc³ de filtrat tungstique provenant du ballon G′ (expérience C sang oxalaté).

On les additionne de carbonate de soude en présence d'une goutte de phtaléine :

J et J″ à teinte sensible;

J′ et J‴ jusqu'à teinte rose vif étalon.

On fait un standard et on termine l'opération suivant la technique de Folin.

Le standard étant à 20mm on lit pour J 30 mm.

teinte sensible → J′ 21 mm.

teinte rose vif étalon → J″ 14 mm. *S oxalaté.*

J‴ 12 mm. *S oxalaté.*

De plus les teintes présentées par J″ et J‴ sont difficilement comparables à celles du standard. Le sérum étant normal il est évident que la lecture de J′ seule doit être retenue (66 mg. 6 par litre d'azote aminé).

De toutes ces expériences, il faut conclure :

1° Que l'alcalinisation doit être poussée au taux élevé spécifié par Folin;

2° Que le dosage doit s'opérer immédiatement sur sérum très frais, les chiffres croissant rapidement avec l'ancienneté du plasma;

3° Que l'oxalate de soude ne doit être employé qu'à l'état de traces, un excès majorant les résultats obtenus.

Nous avons insisté un peu longuement sur ces expériences parce qu'elles traduisent nos tâtonnements du début.

Dans la discussion sur l'alcalinité et le choix de la solution alcaline, Folin met formellement en garde contre les alcalinités

trop élevées qui, dit-il, donnent naissance à des produits colorés de décomposition de la quinone.

Or, chaque fois que nous avons poussé l'alcalinité jusqu'à teinte à peu près stable du filtrat tungstique comparable en intensité colorimétrique au rouge du standard, nos chiffres ont été nettement supérieurs à ceux donnés par Folin, fait qui nous les faisait considérer comme suspects.

D'autre part, une autre difficulté réside dans ce fait : une fois la neutralité dépassée, si l'on pousse l'alcalinité jusqu'à teinte rose vif, il devient difficile d'apprécier le *p*H du filtrat d'après la seule teinte de la phénolphtaléine.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE L'INDICATEUR COLORÉ

Afin d'obvier à cet inconvénient, nous avons alors remplacé la phtaléine par le rouge de phénol dont la teinte offre en milieu tungstique une stabilité plus considérable.

Nous choisissions comme alcalinité le virage au rose stable.

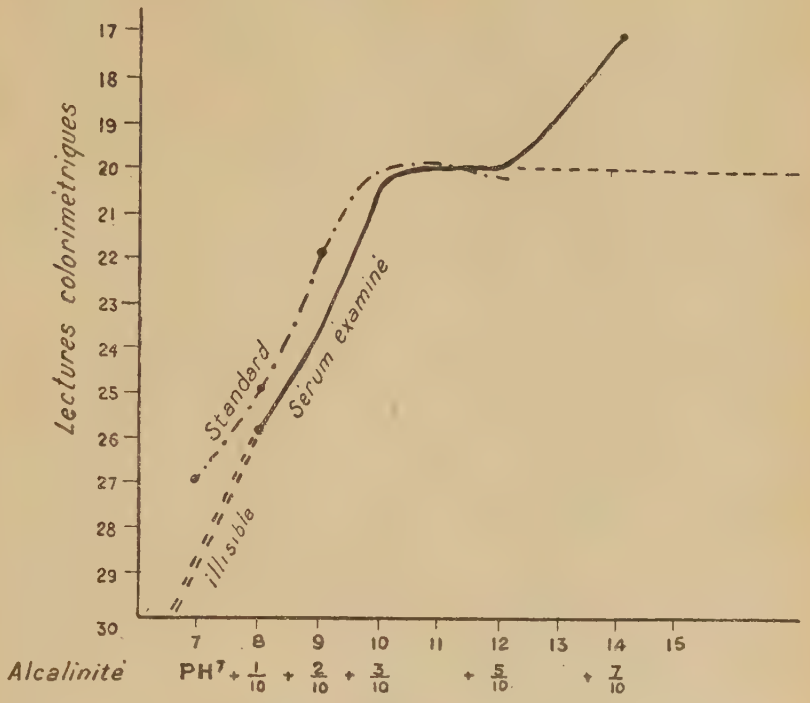
Nous faisions pour chaque détermination trois à quatre tubes. Si par hasard un tube présentait une teinte nettement aberrante nous n'en tenions pas compte dans la détermination du résultat; nous adoptions comme chiffre la moyenne de ces mesures qui présentaient entre elles des différences de 7 à 8 %. Dans ces conditions nous avons obtenu les résultats consignés au tableau B de la page 34.

Ces derniers dosages donnaient donc des résultats d'une moyenne plus faible que ceux énoncés par Folin. Ayant contrôlé que le rouge de phénol virait au rose avant la phénolphtaléine, nous avons pensé avoir des résultats plus comparables à ceux de Folin et plus constants en nous plaçant à teinte sensible, puis, cette teinte obtenue, en ajoutant dans chacun de nos tubes un excès de 3/10 de cm^3 de solution titrée de CO^3Na^2. Nous nous basions sur ce fait : la teinte sensible apparaît au standard pour 7/10 de cm^3 de CO^3Na^2. Comme on ajoute 1 cm^3 de la dite solution c'est bien 3/10 de cm^3 d'excès de carbonate de soude au delà du $pH^{7,5}$ qui se trouvent également dans le standard.

Nous avons également examiné comparativement, d'une part 5 standards, d'autre part 5 tubes du même sérum additionnés de doses croissantes d'alcali, soit : 0 cm^3 7, 0 cm^3 8, 0 cm^3 9, 1 cm^3, 1 cm^3 2, 1 cm^3 5 pour le standard et $pH^{7,5}$ (estimé au virage de la phénol phtaléine) plus 0 cm^3 1, 0 cm^3 2, 0 cm^3 3, 0 cm^3 5, 0 cm^3 7 pour les tubes de sérum.

Nous avons obtenu la courbe suivante où sont portées en

abscisses les lectures colorimétriques et en ordonnées les alcalinités :



L'ébauche de plateau qu'a présenté la coloration du complexe acide aminé-quinone du sérum aux environs de l'alcalinité pH^{7,5}+0 cm^3 3 de carbonate de soude nous avait confirmé dans l'idée que c'était bien là le taux idéal de l'alcalinisation du filtrat.

C'est donc en nous plaçant dans ces conditions, alcalinisation du filtrat jusqu'au virage rose de la phénolsulfonephtaléine, puis addition systématique de 0 cm^3 3 de la solution titrée de carbonate de soude, que nous avons obtenu les résultats consignés au tableau C de la page suivante.

Dans tous ces tableaux les azotes totaux ont été dosés sur filtrat tungstique par la méthode de Kjeldahl en présence de mercure comme catalyseur, les amidures formés étant détruits par addition de monosulfure de sodium. La titration a été effectuée par la soude normale vingtième.

Tableau A.

NOM	DIAGNOSTIC	Az NH^2 par litre (plasma)	Az T par litre	$\frac{Az\ NH^2}{Az\ T}$ sang	$\frac{Az\ NH^2}{Az\ T}$ urine
Tardiv....	Diabèt. sans dénut. gros foie.....	91mm,6	378mm	24,2 %	3,80 %
Le Mas....	Hépat. Foie descendant à l'ombilic, met, circul col. et léger épanchement, subict. grosse rate.....	97mm	271mm	35,7 %	2,80 %
Bielew....	Gros foie.....	42mm,31	308mm,5	13,7 %	1,38 %
Rous.....	Gros foie, grosse rate avec ict. hemor. diarrhée. Fièvre.....	84mm,6	304mm	27,8 %	
N.....	Hémiplégique avec hypertension.....	65mm,8	394mm,3	16,69 %	
Tes.....	Diabète, gros foie, subict, insuf. hep.....	77mm,5	395mm,1	20,08 %	
X.....	Coma hépatique.....	100mm	513mm,3	19,47 %	
Schum.....	Asystolie hépatique chez asthmatique en crise.....	77mm,2	393mm,3	20,7 %	
Rous.....	2e détermination 1er novembre.....	121mm,7	361mm,6	33,6 %	
Le Mas....	2e détermination 1er novembre.....	107mm,5	256mm,6	41,7 %	

Tableau B.

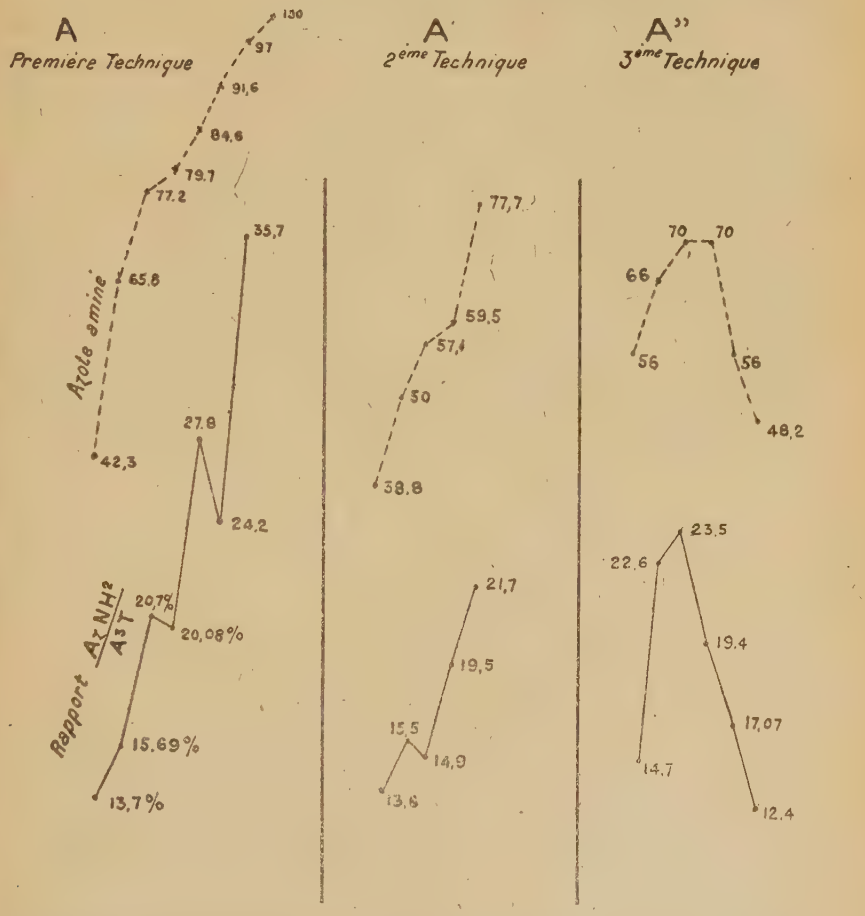
Rous.....	Gros foie, grosse rate, cirrh. hyper d'origine éthyl. avec ict. hémor diar., fièvre.....	77mm,7	355mm,9	21,7 %	
Tch.....	Gros foie, petits signes d'insuf. hép.....	59mm,57	305mm,2	19,5 %	
X.....	Diabète.....	73mm,6	345mm	21,3 %	
Y.....	Gros foie, cir. éthyl. hypertroph. avec ict...	38mm,8	285mm,7	14,92 %	
	Sang communiqué par M. Nepveux.....	50mm	320mm,8	15,58 %	

Tableau C.

X.....	Obèse hypertendu avec diab. sans dénut....	70mm	360mm	19,44 %	
Le Mas....	.....	70mm	296mm	23,59 %	
Aussier....	(Bacillaire) sujet sans aucun signe d'insuf. hép.....	66mm,6	294m§,3	22,65 %	
Pic.....	(Bacillaire) sujet sans aucun signe d'insuf. hép.....	56mm	380mm,4	14,7 %	
Lamour....	.....	56mm	328mm	17 %	
X.....	Bacil. en crise asystol. avec cong. pas. du foie.....	48mm,2	387mm,6	12,4 %	

Conclusions

Si nous traduisons l'ensemble de nos résultats par les courbes $AA^{I}A^{II}$ où nous avons porté en pointillés les valeurs des acides aminés et en traits pleins les valeurs du rapport $\frac{AzNH^2}{AzT}$ nous constatons que les variations de ce rapport sont sensiblement



parallèles aux variations de l'azote aminé du sang. Nous insistons sur ce fait, non seulement parce qu'il est intéressant de constater que le rapport $\frac{AzNH^2}{AzT}$ croît avec l'azote aminé du sang, mais encore parce que c'est par le parallélisme de ces deux

variations que nous nous sommes cru autorisé ultérieurement à sacrifier l'étude du rapport à la multiplicité des déterminations du taux de l'azote aminé, après repas d'épreuve. Au cours de ces expériences quel qu'ait été l'indicateur employé, nous sommes toujours resté dans l'appréciation de l'alcalinité par la comparaison entre une teinte stable (standard) et une teinte plus ou moins variable et fugitive (filtrat) à la merci de quelques dixièmes de centimètres cubes de carbonate de soude en plus ou en moins et ces écarts influençaient nos résultats. D'ailleurs l'ensemble des conditions cliniques dans lesquelles nous nous étions placé était défavorable. Les malades examinés étaient arrivés depuis un temps variable dans le service. Or, si l'on admet les perturbations considérables qu'opérerait, selon Folin, l'ingestion d'un simple repas azoté, il est logique d'admettre que la sage diététique à laquelle les patients se trouvaient soumis depuis plus ou moins longtemps pouvait influencer leur métabolisme azoté et leur amino-acidémie au premier chef. Quant aux prélèvements ils étaient opérés à des distances variables des repas. Toutes causes d'erreurs contribuant, chacune pour leur part à la valeur très relative des chiffres obtenus.

TROISIÈME PARTIE

Essais d'aminoacidémie provoquée

Ces difficultés nous ont incité à procéder à des essais d'aminoacidémie provoquée par repas d'épreuve en faisant des prises de sang de demi-heure en demi-heure afin d'effectuer des neutralisations, non plus isolées, mais faites en série et simultanément sur le même sérum. Dans ces conditions, il devient évidemment plus facile de se placer, pour tous les tubes en expérience, dans des conditions d'alcalinisation identique.

Cette technique présente en outre l'avantage suivant : la hauteur de la vague aminée produite par brusque ingestion d'un repas peptoné est un renseignement plus constant que l'étiage même de ce niveau en azote aminé lequel est sous la dépendance du régime alimentaire subi par le malade au cours des jours précédents (Folin).

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE A L'ACIDE TUNGSTIQUE

Sur les conseils de M. Nepveux, afin d'opérer sur les malades des prises de sang nombreuses et rapprochées nous l'avons prélevé par piqûre de l'extrémité du doigt après soigneux nettoyage à l'éther.

Cette piqûre, — faite avec la lancette automatique de Bensaude qui permet une pénétration fixe, — est pratiquement indolore. Elle doit être profonde de telle sorte que le sang sourde en grosses gouttes. S'il est nécessaire, pour obtenir du sang, d'exprimer énergiquement le doigt il faut recommencer la prise car les résultats obtenus sont inexacts (en raison vraisemblablement de l'afflux de lymphe). Le sang est recueilli le

plus rapidement possible sur de petits buvards mesurant 1 cm. sur 2 cm ½; ces petits buvards doivent être pesés avant et après imprégnation. C'est avec une balance de torsion que l'on doit opérer et, pour que la pesée soit correcte, il faut agir vite afin d'éviter toute évaporation.

Pour la première détermination nous avons imbibé pour chaque prise un seul papier buvard que nous avons précipité dans 5 cm³ du déféquant suivant :

Tungstate de soude 10/100.....	10 cm³
$SO^4H^2 \frac{2N}{3}$	10 cm³
H^2O dist. QS ad.....	100 cm³

Cette solution doit être préparée extemporanément car, au bout de 24 heures, elle devient dichroïque et laisse finalement l'acide métatungstique se séparer sous forme d'un précipité gélatineux.

Après 4 heures de diffusion nous avons prélevé (après filtration) 4 cm³ de chaque tube, puis opéré la neutralisation au carbonate de soude et terminé l'opération comme de coutume mais en ramenant toutes les mesures usuelles dans la proportion des 3/10 et en complétant avec de l'eau distillée à 6 cm³.

De même nous avons constitué le standard avec 3/10 cm³ de solution standard de Folin, plus 3/10 cm³ de solution titrée de carbonate, plus 6/10 cm³ de la solution de quinone, plus, — ultérieurement, — 6/10 de solution acide acétique acétate, 6/10 de la solution de thiosulfate, et q. s. d'eau ad. 12 cm³.

Cette expérience nous a donné pour le même sang les chiffres suivants : 82 mg. d'azote aminé par litre et 74 mg. pour les deux autres déterminations.

Les résultats nous ont paru dans l'ensemble suffisamment encourageants pour recommencer l'épreuve. Mais les lectures ayant été difficiles parce que la teinte était pâle, et que les 6 cm. de volume total donnaient une hauteur très faible dans les godets du colorimètre, nous avons alors opéré avec 10 cm³ du déféquant pour chaque tube et avec quatre buvards donnant des prises globales d'environ 350 mg. de sang.

De même nous nous sommes servi du standard habituel de Folin et, après filtration du déféquant jusqu'à la dernière goutte, puis neutralisation, nous avons fait réagir 1 cm³ de quinone et complété : le filtrat tungstique a 13 cm³; le Standard a 26 cm³.

Dans de telles conditions les teintes sont semblables en intensité à celles obtenues en respectant la technique de Folin. Elles sont très facilement comparables à celle du standard et ont donné, pour les prises effectuées simultanément, des chiffres variant entre 0 et 9 %.

Nous avons alors procédé à une première épreuve sur nous-même : étant à jeun depuis 12 heures nous avons ingéré un bol de bouillon de veau contenant 20 gr. de peptone pancréatique de Byla, nous avons prélevé notre sang de 30' en 30' et noté les chiffres suivants.

N° I

Prise du repas....	10 h.	59mm	11 h.	68mm	12 h.	60mm
	10 h. ½	70mm	11 h. ½	68mm	12 h. ½	58mm
			1 h.	51mm		

Après avoir régulièrement crû pendant 1 heure, le taux des acides aminés se met à décroître et, 2 heures après l'ingestion du repas, descend au-dessous du niveau primitif.

Ayant jugé la variation des acides aminés peu considérable, nous avons recommencé l'expérience sur un sujet normal avec un repas d'épreuve contenant 40 gr. de peptone dans du bouillon de veau et noté les chiffres suivants :

N° II

Prise du repas....	10 h.	68mm	11 h.	87mm	12 h.	54mm
	10 h. ½	74mm	11 h. ½	70mm		

Une troisième expérience tentée sur Mlle Ul... donne les chiffres suivants :

N° III

Prise du repas....	10 h.	112mm	11 h.	139mm		
	10 h. ½	153mm	11 h. ½	120mm		

Une quatrième sur un bacillaire apyrétique et ne présentant aucun stigmate d'affection hépatique (Lebr).

N° IV

Prise du repas....	10 h.	98mm	11 h.	106mm	12 h.	
	10 h. ½	108mm	11 h. ½	111mm	12 h. ½	106mm

Chez Turq, présumé normal au point de vue hépatique :

N° V

Prise du repas....	10 h.	78mm	11 h.	90mm	12 h.	71mm
	10 h. ½	80mm	11 h. ½	78mm	12 h. ½	73mm

Chez Ch... (diabète, malade traité précédemment à l'insuline) :

N° VI

Prise du repas....	10 h.	110mm	11 h.	120mm	12 h.	137mm
	10 h. ½	114mm	11 h. ½	127mm	12 h. ½	169mm

Cend... (hépatique, gros foie, troubles digestifs.) :

N° VII

Prise du repas....	10 h.	74mm	11 h.	85mm	12 h.	96mm
	10 h. ½	93mm	11 h. ½	87mm	12 h. ½	92mm

Bianch.... (hépatique) :

N° VIII

Prise du repas....	10 h.	70mm	11 h.	79mm	12 h.	74mm
	10 h. ½	90mm	11 h. ½	75mm	12 h. ½	72mm

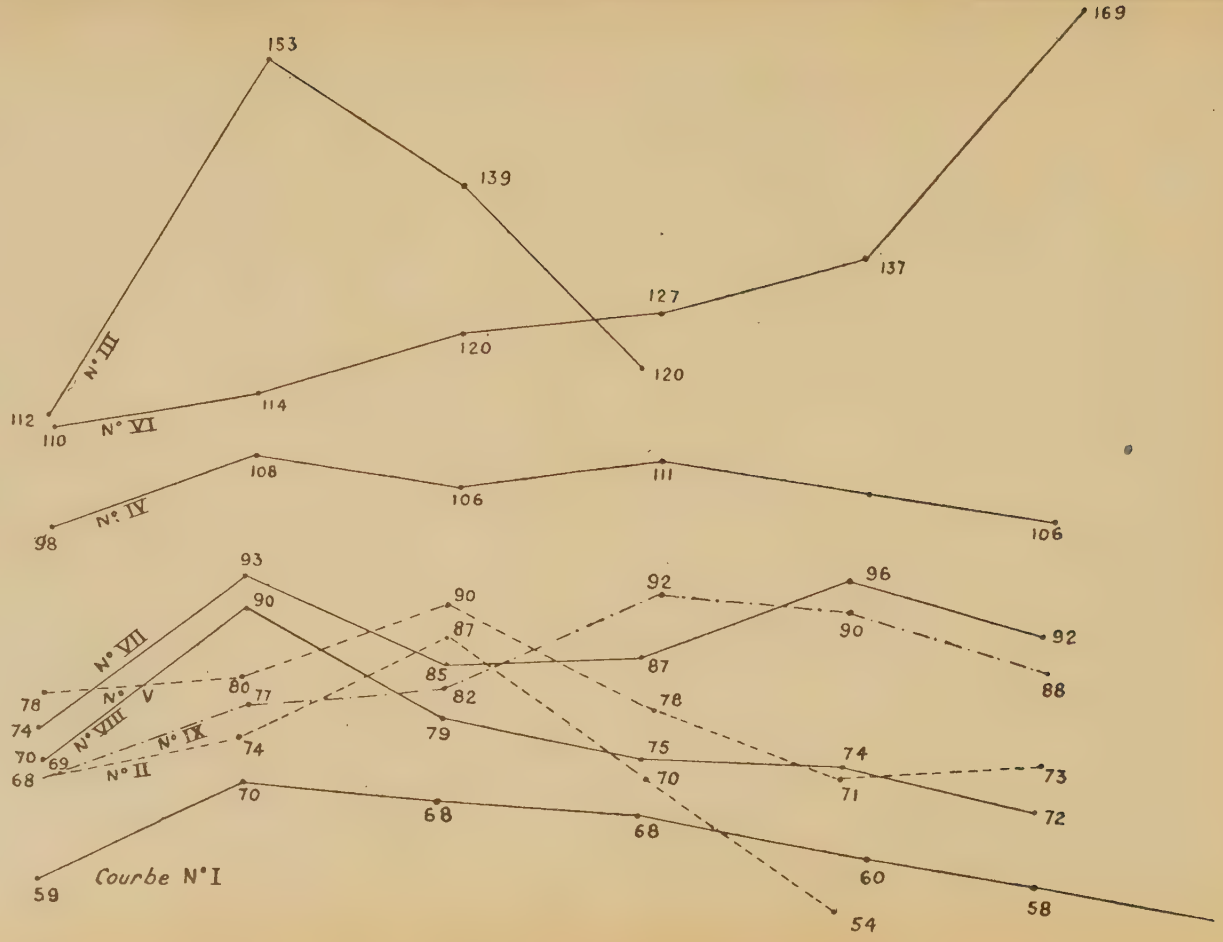
(hépatique, cirrhose éthylique avec ascile ictère, hémorragies, état général grave) :

N° IX

Prise du repas....	10 h.	69mm	11 h.	82mm	12 h.	90mm
	10 h. ½	77mm	11 h. ½	92mm	12 h. ½	88mm

A part l'expérience n° 6, dans tous nos essais le taux de l'aminoacidémie, après s'être élevé régulièrement pendant la première demi-heure ou la première heure, a décru ensuite (au point, dans les courbes I, II et V, de descendre au-dessous du niveau primitif).

Pourtant un fait restait difficilement admissible : les différences considérables trouvées entre l'aminoacidémie des divers sujets pris à jeun. Il paraît improbable qu'entre des sujets nor-


153
139
169
137
127
120
120
112
110
114
N° III
N° VI
108
106
111
98
106
N° IV
93
90
92
96
90
92
87
88
78
74
80
77
85
82
87
78
N° VII
N° V
N° VIII
N° IX
N° II
70
69
68
74
79
75
74
73
70
71
72
70
68
68
60
58
59
54
Courbe N°I

maux puissent exister des variations égales à un coefficient de 1,8 presque du simple au double !

D'autre part, si l'on prend notre malade n° IX, il peut paraître peu vraisemblable que dans un cas côtoyant l'ictère grave, nous ayons obtenu des chiffres aussi normaux que ceux oscillant entre 70 et 92.

Nous avons immédiatement pensé que de telles différences provenaient toujours de notre grosse cause d'erreur : l'alcalinisation. Certes, cette dernière est facilement obtenue, toujours à peu près semblable, sur les différents filtrats d'une même expérience mais, dans la comparaison entre la teinte stable du standard et la teinte transitoire du filtrat, se glisse d'une fois à l'autre un facteur temps qui joue un rôle considérable. Il nous est venu à la pensée que c'est selon la durée de nos séances d'alcalinisation (certaines duraient une demi-heure passée) que la courbe se plaçait plus ou moins haut sur la ligne des abscisses. Il était pourtant indispensable de parvenir à régulariser les chiffres, à les rendre de malade à malade comparables entre eux.

CHAPITRE II

TECHNIQUE DÉFINITIVE A L'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE

Nous avions déjà essayé de remplacer l'acide tungstique par l'acide trichloracétique afin, dans notre idée, de saisir les acides aminés à grosse molécule que l'acide tungstique ne laisse pas passer. Nous avions tout d'abord renoncé à cette technique à cause de la quantité considérable de carbonate de soude qu'il faut ajouter pour neutraliser l'excès d'acidité de l'acide trichloracétique. Excès tel qu'il fallait commencer la neutralisation non avec la solution carbonatée mais avec quelques gouttes de soude.

Nous y avions également renoncé à cause de l'énormité des chiffres obtenus. Comme nous l'avons relaté au chapitre concernant la désalbumination pour le même sérum, il fallait multiplier les acides aminés du filtrat tungstique par un coefficient de 1,6 à 1,8 pour les rendre comparables à ceux du filtrat trichloracétique.

Toutefois, devant la nécessité de supprimer l'aléa présenté par les neutralisations en milieu tungstique, il nous a fallu revenir à l'acide trichloracétique; nous avons remplacé notre déféquant tungstate de soude acide sulfurique par 10 cm³ d'acide trichloracétique à 2 %. Quatre heures après avoir précipité les buvards chargés de sang dans ce déféquant, le contenu de chaque tube ayant été filtré, on en prélève 7 cm³ : c'est sur cette partie aliquote qu'on opère le dosage — après addition de phénolphtaléine — selon la technique de Folin. La seule variante consiste dans l'addition avant neutralisation de 2 gouttes de lessive de soude pure. On ajoute ensuite soigneusement du carbonate de soude jusqu'à faible mais stable virage rose; cette teinte sensible obtenue, on verse dans chaque tube 3/10 de cm³ de la solution titrée de carbonate de soude. L'opération est terminée selon la technique usuelle. Finalement, on complète la solution à doser à 13 cm³ et le standard à 26 cm³.

Il semblerait plus rigoureux et plus logique d'opérer parallèlement pour le standard en additionnant 1 cm³ de solution de glycine de 5 cm³ de solution déféquante et en ajoutant ensuite le carbonate de soude de manière à dépasser le *p*H⁷,⁵ d'une quantité égale à 3/10 de cm³ de solution titrée. Ainsi standard et filtrat sanguin ne différeraient que par leur teneur en azote aminé. L'expérience nous ayant démontré que cet étalon était moins stable que celui de Folin nous nous en sommes tenu à ce dernier; il importe peu en effet d'avoir des valeurs absolues mais des chiffres comparables entre eux.

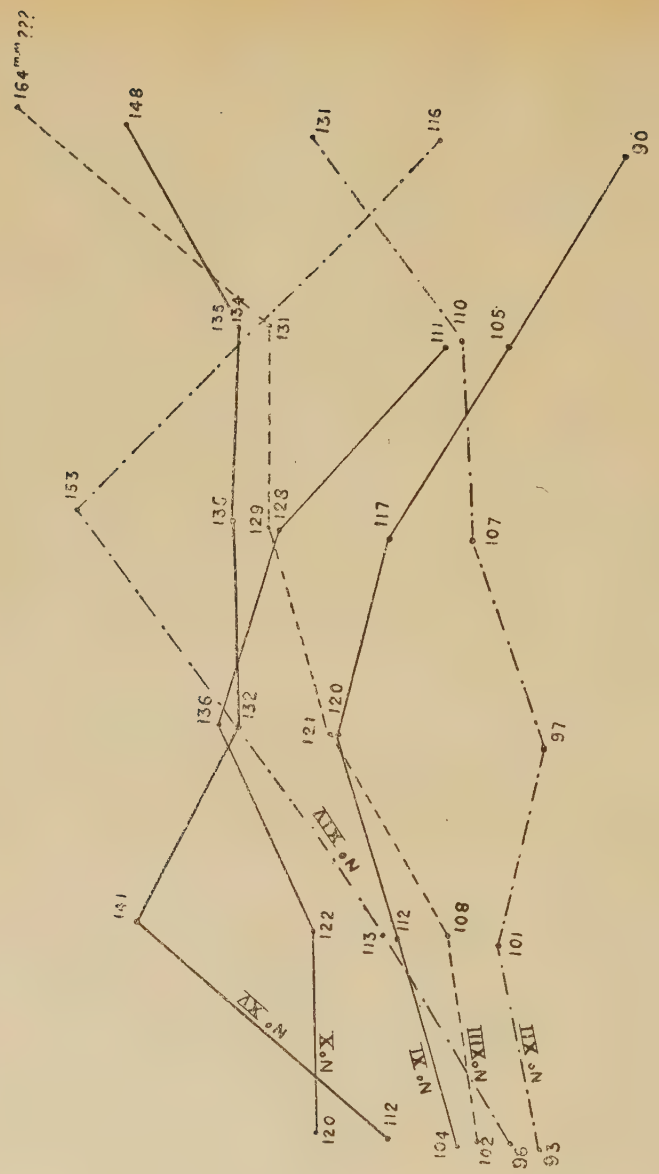
En même temps que nous changions de solution déféquante nous adoptions également une technique différente pour la prise de sang : nous avons remplacé les 4 buvards de pouvoir absorbant moyen par 2 papiers épais et très poreux de telle façon que chacun pour un poids d'environ 150 mg. soit susceptible de fixer 250 à 272 mg. de sang. La prise devient ainsi beaucoup plus facile étant réduite de 4 à 2 pesées. Il faut éviter toutefois de trop charger les buvards, l'albumine coagulée sur le papier constituant une gêne. Enfin, nous insistons de nouveau ici sur les causes d'erreur dues aux piqûres incorrectes. Les prises trop longues obtenues avec de fortes pressions donnent toujours des résultats aberrants et l'on peut avoir avantage pour les pulpes flétries de certains malades à leur faire tremper quelques instants au préalable le doigt dans l'eau tiède.

Une autre cause d'erreur est la sensibilité de la réaction à l'ammoniaque atmosphérique. Les papiers buvards doivent également être soigneusement vérifiés. Les buvards préparés pour les glycémies sont suspects : ils gardent de leur séjour prolongé dans une solution acétique une très légère réaction acide et peuvent de ce fait fixer des traces d'ammoniac. C'est en nous plaçant dans ces conditions, tous les repas d'épreuve ayant été constitués par 40 gr. de peptone, que nous avons obtenu les résultats suivants :

Lho... normal.

N° IX

Prise du repas....	10 h. 10 h. ½	123mm 136mm	11 h. 11 h. ½	126mm 123mm	12 h.	112mm



Bacillaire sans aucun signe d'insuffisance hépatique.

N° X

Prise du repas....	10 h.	120mm	11 h.	136mm	12 h.	111mm
	10 h. ½	122mm	11 h. ½	128mm		

Bacillaire sans aucun signe d'insuffisance hépatique.

N° XI

Prise du repas....	10 h.	104mm	11 h.	120mm	12 h.	105mm
	10 h. ½	112mm	11 h. ½	117mm	12 h. ½	90mm

Pet... obésité considérable.

N° XII

Prise du repas....	10 h.	93mm	11 h.	97mm	12 h.	110mm
	10 h.	101mm	11 h. ½	107mm	12 h. ½	131mm

Tilber... aucun signe d'insuffisance hépatique, mais bronchite et légère angine.

N° XIII

Prise du repas....	10 h.	102mm	11 h.	121mm	12 h.	131mm
	10 h. ½	108mm	11 h. ½	129mm	12 h. ½	164mm

Nous avons tenté d'adapter à ces courbes la notion d'aire de réaction qui dans l'hyperglycémie provoquée est devenue classique sous le nom de triangle d'hyperglycémie. Si l'on compte les temps en abscisse et l'hyperaminoacidémie en ordonnée, en prenant pour origine de l'axe des ordonnées l'aminoacidémie à jeun, la courbe de l'hyperaminoacidémie figure vaguement un triangle avec l'axe des ordonnées. Il suffit d'en calculer la surface, c'est-à-dire le demi-produit de la base, par la hauteur pour avoir un chiffre qui mesure dans les deux sens la réaction d'hyperaminoacidémie. Bien entendu, pour avoir des chiffres comparables il faut toujours construire les courbes à la même échelle.

Nous avons exprimé en milligrammes la flèche d'hyperaminoacidémie (autrement dit la différence entre l'aminoacidémie à jeun et l'aminoacidémie maxima après ingestion de peptone). Les temps portés sur l'axe des ordonnées doivent être exprimés en heures ou fractions d'heures, minutes, secondes. Malheureusement la durée de nos expériences a été souvent trop courte pour permettre à la courbe de redescendre à son niveau primitif; de plus, quand on construit chez un sujet quelconque la courbe d'hyperglycémie, on s'aperçoit qu'elle s'élève puis

s'abaisse avec une régularité absolue. La courbe d'hyperaminoacidémie n'offre nullement cette régularité d'allure, ce qui fait perdre beaucoup de valeur à cette façon de mesurer l'amplitude de la réaction.

Paragraphe premier

L'Aminoacidémie chez les hépatiques.

Pendant longtemps l'aminoacidurie n'a été signalée qu'au cours des affections du foie, les auteurs allemands avaient trouvé de la leucine, de la tyrosine et un peu de glycolle dans l'atrophie jaune aiguë. Bergell trouve de l'ammoniurie, de l'albumose, de la leucine, de la tyrosine, de la glycine, de la phénylalanine dans l'intoxication phosphorée, d'autres y ajoutent l'alanine et l'arginine. Enfin Mancini, le premier, insiste sur l'aminoacidurie comme signe d'insuffisance hépatique, ce que Frey Delaunay et Bith avec M. Marcel Labbé ont confirmé depuis. Il était donc naturel d'orienter nos premières recherches sur quelques hépatiques qui nous ont donné les chiffres suivants :

Büch...

N° XIV

Prise du repas....	10 h.	96mm	11 h.	132mm	12 h.	134mm
	10 h. ½	113mm	11 h. ½	153mm	12 h. ½	116mm

Cette malade avait présenté une cholécystite d'origine typhique s'accompagnant de congestion simple du foie. Bien que nous l'ayions examinée en pleine convalescence, sa courbe de réaction nous a paru beaucoup plus élevée que chez un sujet normal.

Mons... (paralytique avec cirrhose éthylique, troubles digestifs, urobilinurie et légère ascite).

N° XV

Prise du repas....	10 h.	112mm	11 h.	132mm	12 h.	135mm
	10 h. ½	141mm	11 h. ½	135mm		

Les chiffres obtenus sont parmi les plus élevés; après être montée une demi-heure, la courbe se prolonge par un plateau.

Har..., gros foie dépassant 3 travers de doigts les fausses côtes; urobilinurie, troubles digestifs, petits signes d'insuffisance hépatique. Malade soumis depuis trois semaines à un strict régime lacto-végétarien.

N° XVI

Prise du repas....	10 h.	80mm	11 h.	110mm	12 h.	110mm
	10 h. ½	108mm	11 h. ½	104mm	12 h. ½	90mm

Delam..., angine gros foie avec troubles digestifs et petits signes d'insuffisance hépatique.

N° XVII

Prise du repas....	10 h.	81mm	11 h.	116mm	12 h.	108mm
	10 h. ½	106mm	11 h. ½	107mm	12 h. ½	93mm

Courbe se juxtaposant presque complètement avec celle précédemment citée.

Enfin nous avons noté des chiffres vraiment extraordinaires chez Mut..., malade atteint d'un ictère par néoplasie probable du choledoque.

N° XVIII

Prise du repas....	10 h.	104mm	11 h.	236mm	12 h.	155mm
	10 h. ½	191mm	11 h. ½	159mm	12 h. ½	141mm

Bien que le docteur Bith ait dans un cas semblable trouvé une aminoacidurie considérable, la flèche formidable produite par l'ingestion de 40 gr. de peptone, c'est-à-dire seulement d'environ 9 gr. d'azote, nous oblige à faire les plus grandes réserves sur un tel résultat.

Paragraphe II

L'Aminoacidémie chez les diabétiques.

Les aminoacides ont été recherchés dans les urines des diabétiques par quelques auteurs dont les résultats sont assez différents. Alors qu'Abderhalden et Jacks ont constaté l'amino-

acidurie des diabétiques, Langstein et Rietschel eurent des résultats opposés. Bith sépare dès le début le diabète sans dénutrition du diabète avec dénutrition dans lequel l'acidose se produit très rapidement.

Tandis que chez les diabétiques sans dénutrition il n'y a pas d'hyperaminoacidurie, les diabétiques avec dénutrition présentent une notable déperdition aminée. C'est chez ces malades qu'ont été signalés les plus fortes aminoaciduries et des rapports $\frac{NNH^2}{NT}$ urinaires s'élevant jusqu'à 20 %.

Nous avons examiné nous-même quelques diabétiques.

A) *Diabètes sans dénutriton.*

Maur..., diabète sans dénutrition chez sujet âgé.

N° XIX

Prise du repas....	10 h.	103mm	11 h.	117mm	12 h.	112mm
	10 h. ½	109mm	11 h. ½	112mm	12 h. ½	106mm

Guy..., diabète sans dénutrition.

N° XX

Prise du repas....	10 h.	94mm	11 h.	108mm	12 h.	102mm
	10 h. ½	105mm	11 h. ½	98mm	12 h. ½	111mm

Dans ce cas tout à fait exceptionnel l'hyperaminoacidémie procéderait en 2 vagues successives, dans l'intervalle desquelles elle retombe au voisinage de l'aminoacidémie à jeun. A part cette anomalie, la courbe, quant à la valeur absolue de ses chiffres, peut être considérée comme normale.

B) *Diabète avec dénutrition. — Influence de l'insuline.*

Nous avons examiné le même jour et comparé au même standard le sang de deux malades.

Géni... et Ar...

Nous avons obtenu pour Géni...

N° XXI

Prise du repas....	10 h.	102mm	11 h.	142mm	12 h.	107mm
	10 h. ½	122mm	11 h. ½	140mm	12 h. ½	99mm

et pour Ar...

N° XXII

Prise du repas....	10 h.	111mm	11 h.	117mm	12 h.	105mm
	10 h. ½	110mm	11 h. ½	105mm		

Nous insistons ici sur ces deux courbes parce que nous avons opéré parallèlement sur ces deux sangs les comparant avec le même standard et nous plaçant dans des conditions rigoureuses d'égalité. Géni..., qui sortait du service très améliorée et presque aglycosurique, donnait, sinon des chiffres absolus, tout au moins une aire de réaction très développée. Ar..., au contraire, dont l'urine présentait une réaction de Gerhardt positive et dont la glycosurie était assez considérable, réagissait faiblement à l'épreuve de la peptone.

Pour nous ces résultats s'expliquent par ce fait qu'Ar... était alors en cours de traitement insulinien.

Or l'insuline a une action considérable sur la fixation des matières azotées et chez aucun diabétique grave en cours de traitement à l'endopancrine nous n'avons pu relever de chiffres intéressants.

Ce fait est fixé nettement par les courbes obtenues chez Roger Bie... A une semaine d'intervalle, avant et après traitement à l'insuline, nous avons noté les chiffres suivants :

N° XXIII

Prise du repas....	10 h.		11 h.	184mm	12 h.	182mm
	10 h. ½	184mm	11 h. ½	207mm	12 h. ½	164mm

N° XXIV

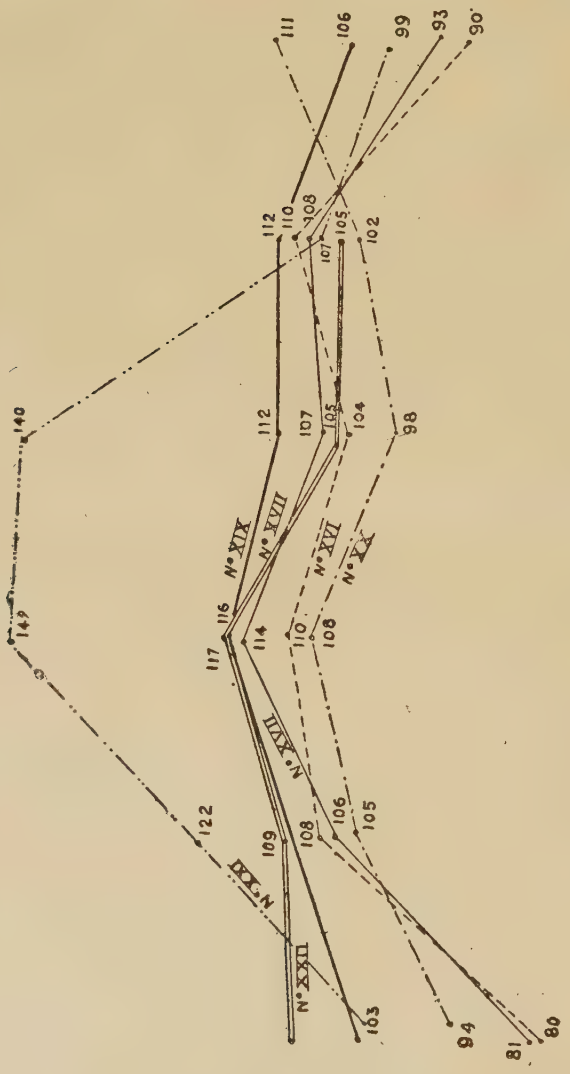
Prise du repas....	10 h.	109mm	11 h.	142mm		
	10 h. ½	116mm	11 h. ½	127mm	12 h.	118mm

Entre la moyenne des 5 premiers chiffres (184) et des 5 seconds (126), il existe une différence considérable et parfaitement capable d'être saisie, même par une technique ne donnant que des résultats approximatifs.

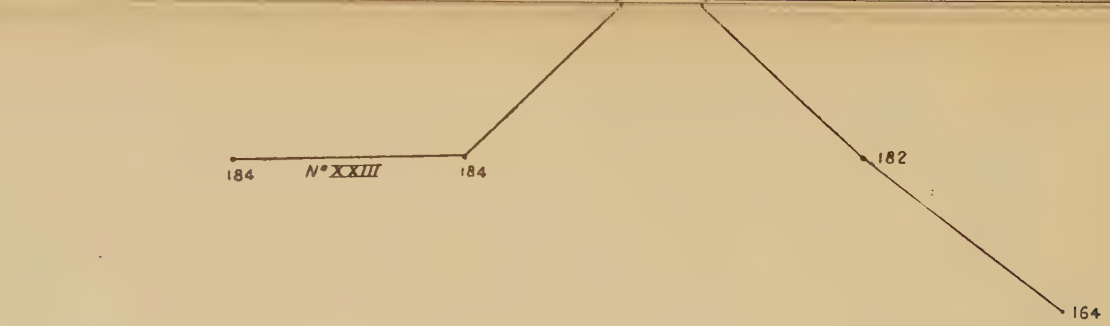
Mil... Louis

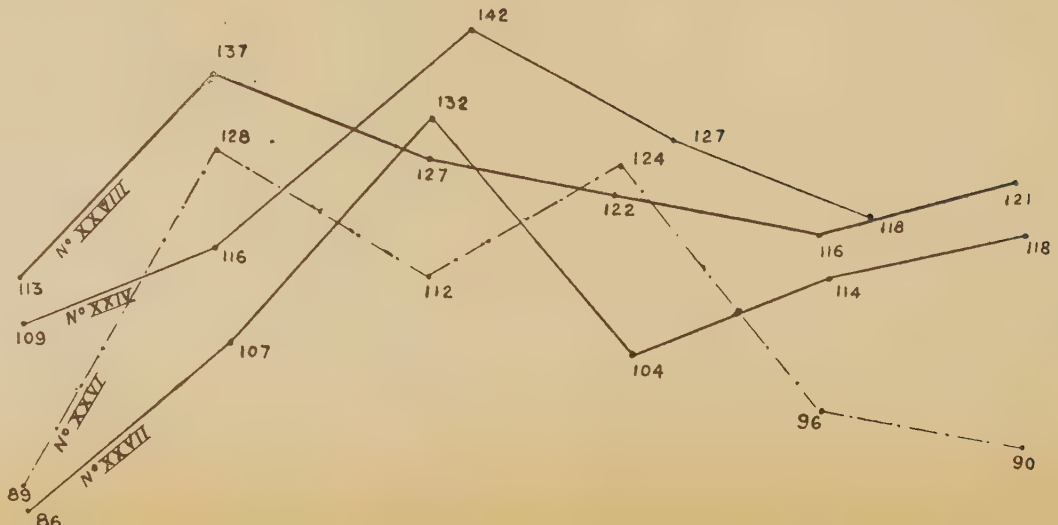
N° XXV

Prise du repas....	10 h.	124mm	11 h.	114mm		
	10 h. ½	138mm	11 h. ½	98mm	12 h.	89mm



Courbe atypique présentant, après une légère accentuation une courbe d'hypoaminoacidémie prononcée.


184
N° XXXIII
184
182
164


142
137
132
128
127
124
127
122
121
118
116
116
118
113
N° XXVIII
116
112
114
109
N° XXIX
107
104
N° XXXI
96
N° XXXII
90
89
86

Cheval..., diabète avec dénutrition légère non insuline.

N° XXVI

Prise du repas....	10 h.	89mm	11 h.	112mm	12 h.	96mm
	10 h. ½	128mm	11 h. ½	124mm	12 h. ½	90mm

Courbe presque normale quant à son aire de réaction et ses chiffres.

Pet..., diabète avec dénutrition et acidose insuline.

N° XXVII

Prise du repas..	10 h.	86mm	11 h.	132mm	12 h.	114mm
	10 h. ½	107mm	11 h. ½	104mm	12 h. ½	118mm

Ici la courbe après l'esquisse d'un clocher se termine en plateau. Ensemble de chiffres de peu supérieurs à la moyenne.

Dur..... diabète avec dénutrition acidose insuline :

N° XXVIII

Prise du repas....	10 h.	113mm	11 h.	127mm	12 h.	116mm
	10 h. ½	137mm	11 h. ½	122mm	12 h. ½	121mm

CHAPITRE III

ABSENCE D'IDENTITÉ DE NOS DOSAGES ET DE CEUX PUBLIÉS PAR FOLIN

Alors que nos premiers dosages obtenus par la méthode même de Folin et avec défécation tungstique étaient identiques comme ordre de grandeur à ceux qu'il a publié et qu'ont publiés (sur des animaux) Okada et Bock, les chiffres obtenus par notre microméthode, avec défécation trichloracétique, sont fondamentalement différents; à tel point que les résultats de l'auteur américain doivent être multipliés par un coefficient variant de 1,6 à 1,8 pour être comparés aux nôtres.

Ainsi multiplions les valeurs de la courbe FB (Folin) par ce coefficient, nous retombons exactement sur les chiffres de notre graphique nº 15. Tous les nombres cités dans les tableaux précédents, systématiquement diminués de 40 %, retombent dans la marge des chiffres publiés par Folin. Ainsi tous nos dosages chez des sujets à jeun, oscillent entre 80 et 124 mg., les chiffres de Folin (sang total) chez des sujets normaux et à jeun oscillent entre 50 et 68 mg. : les rapports sont donc sensiblement les mêmes chez Folin et nous-même, seule la valeur absolue des chiffres n'est pas identique.

Comme nous l'avons énoncé dans le chapitre consacré à la désalbumination, nous avons attribué l'importance numérique de nos résultats à l'emploi comme déféquant, de l'acide trichloracétique. Au demeurant nos chiffres cadrent avec ceux publiés par Loeper, Decourt et Lesure qui citent assez couramment (biologie du 12 novembre, 1925) des teneurs de 75-88 et 97 mg. Or il convient, d'après les moyennes des dosages même de Folin, de multiplier les valeurs des chiffres obtenus sur plasma par un coefficient d'environ 1,3 pour obtenir l'azote aminé correspondant du sang total. Il ressortait d'un entretien verbal avec M. Lesure que ces chiffres ont été obtenus après défecation par l'acide trichloracétique au tiers (les auteurs ayant abandonné leur défécation primitive au sel d'urane) et formol titra-

tion à l'aide de solutions centinormales. L'ordre de grandeur de leurs chiffres (leur défécant étant le même que le nôtre) était donc sensiblement le même que celui obtenu par nous sur des sujets à jeun. Notons également que notre alcalinisation s'opérait dans des conditions différentes de celles de Folin puisqu'elle avait lieu en présence d'un mélange de carbonate de soude et de soude alors qu'il faut un mélange de bicarbonate et de carbonate.

CHAPITRE IV

IDENTITÉ DE LA FORME GÉNÉRALE DE NOS COURBES AVEC CELLES DE FOLIN

Si nos chiffres sont notablement supérieurs à ceux de Folin, par contre nos résultats, traduits par des courbes, affectent une remarquable identité de forme générale avec les graphiques de Folin. Si nous portons les six résultats donnés par ce dernier sur des courbes, nous obtenons, durant les deux heures et demie qui suivent l'ingestion du repas d'épreuve, trois types.

Le premier type (tableau A) représenté par deux courbes croît constamment.

Le deuxième type (tableau B) après avoir crû un temps donné passe ensuite par un plateau.

Le troisième type (tableau C) après avoir décrit une rapide ascension descend ensuite rapidement au voisinage de son point de départ.

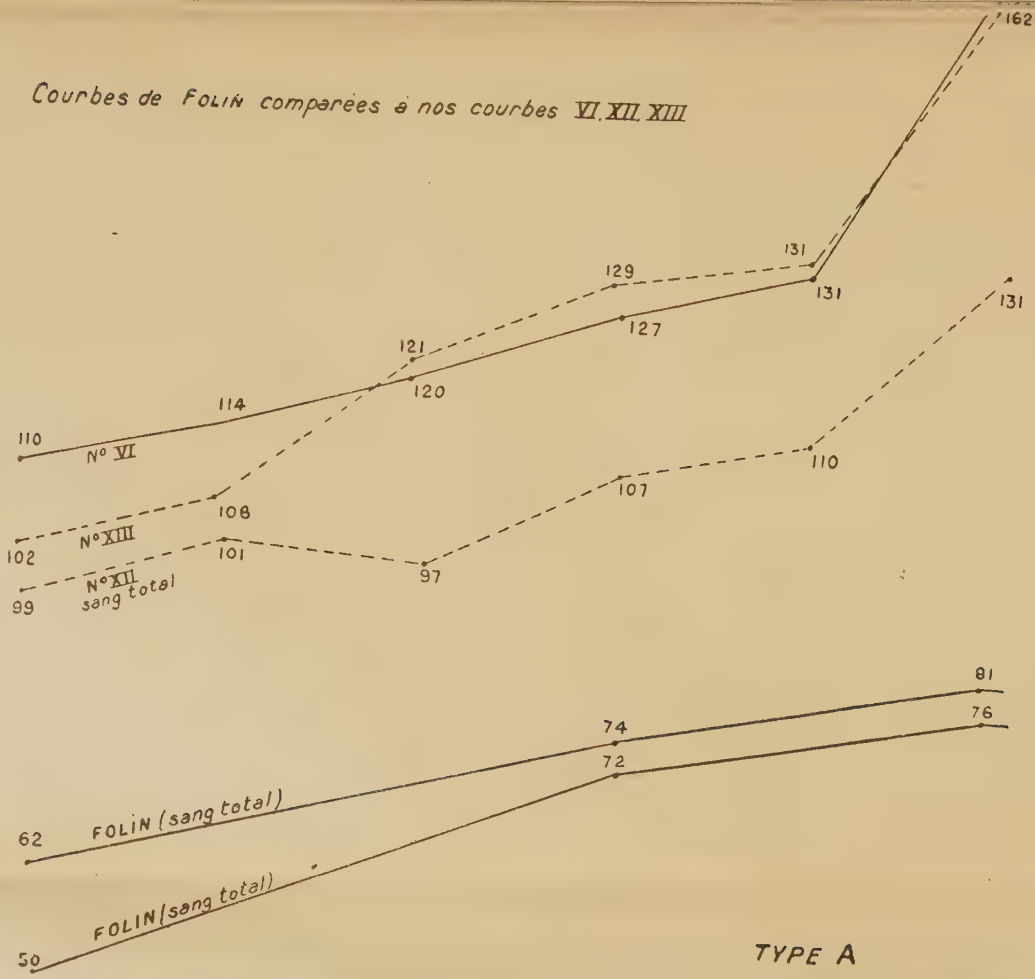
Or toutes nos courbes se rattachent à ces trois types et nous avons porté sur chacun de ces tableaux des graphiques revêtant avec ceux de Folin une indéniable parenté de forme.

Si les chiffres de Folin sont exacts il faut donc admettre que chez certains sujets normaux la vague d'hyperaminoacidémie croît encore deux heures après l'ingestion d'un repas d'épreuve, alors que chez d'autres sujets, également normaux, cette vague d'hyperaminoacidémie a accompli sa révolution presque complète dans le même temps : variation considérable, déconcertante si nous la comparons au phénomène d'hyperglycémie provoquée ou, sauf des cas tout à fait pathologiques, la vague de glycose ne présente jamais de semblables variations de durée, d'un sujet à un autre.

Notons pourtant que cette variation se trouve partiellement expliquée par le fait que Folin n'a jamais donné deux fois de suite le même repas d'épreuve.

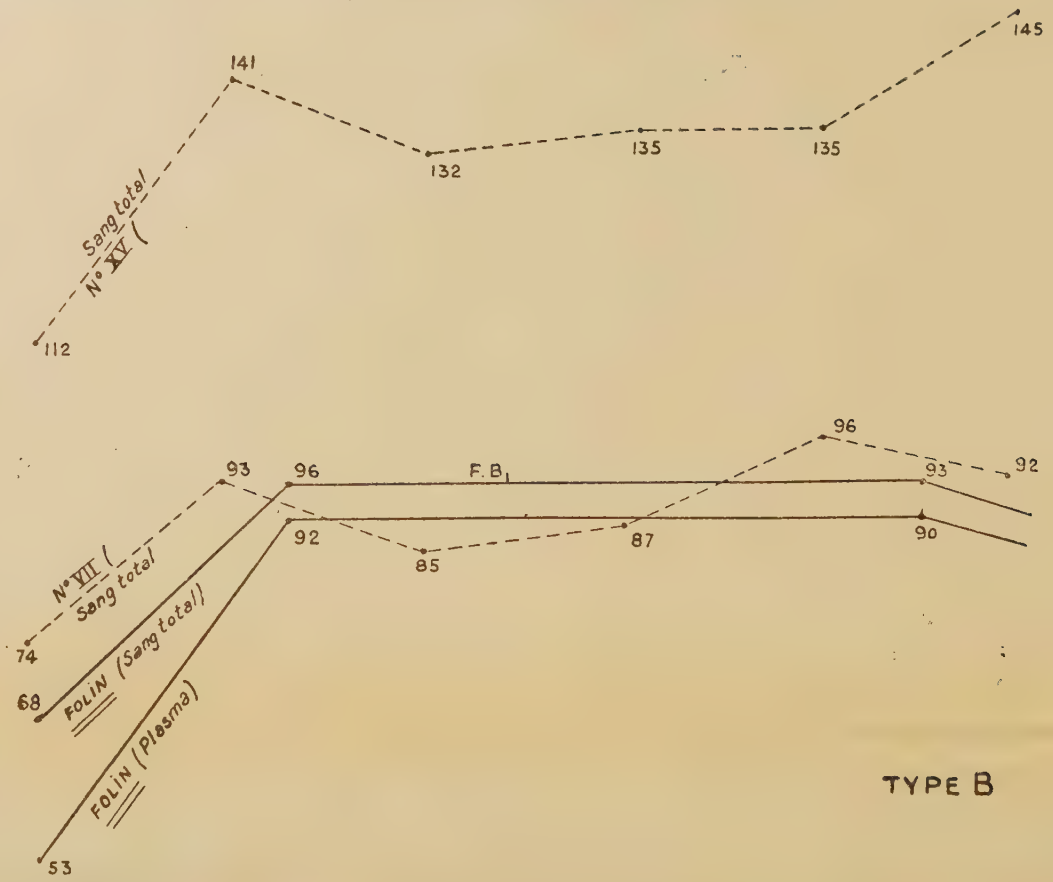
On peut admettre que des œufs et du lait, de la gélatine, de la caséine prédigestée du glycocolle s'absorbent plus ou moins facilement, plus ou moins rapidement.

Courbes de FOLIN comparées à nos courbes VI, XII, XIII



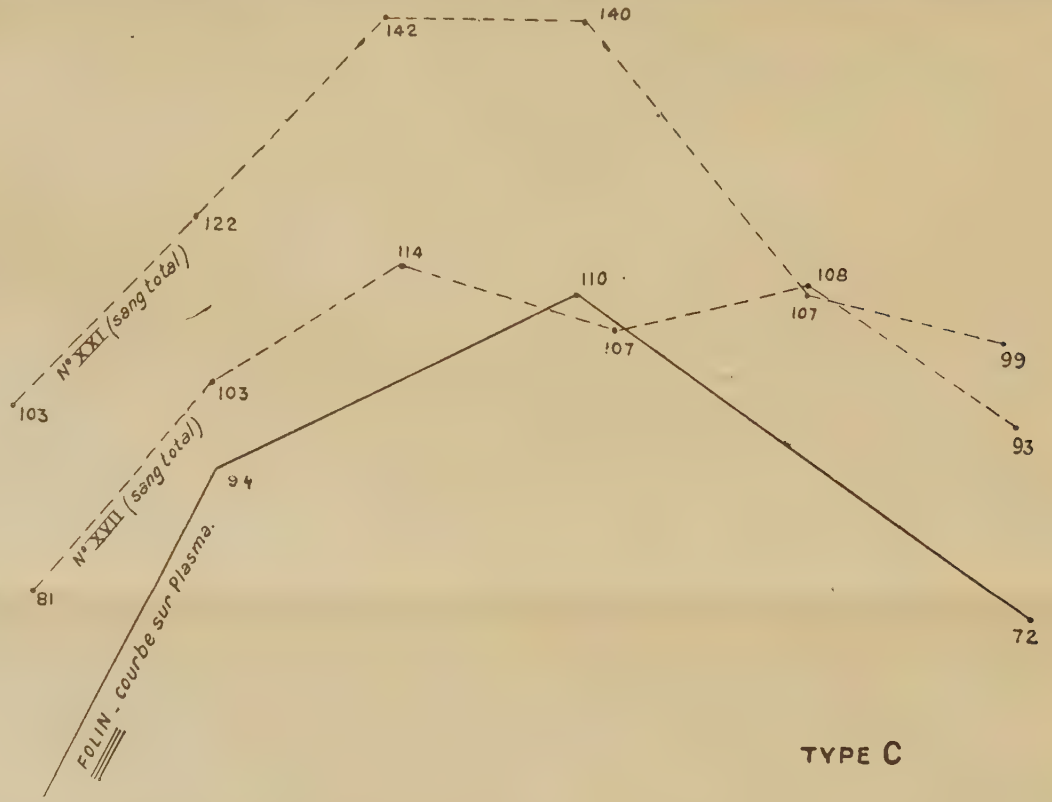
TYPE A

Courbes de FOLIN comparées à nos courbes VII & XV.



TYPE B

Courbe de FOLIN comparée à nos courbes XVII & XXI


140
142
122
114
110
108
107
107
99
93
103
103
94
81
72
N° XXI (sang total)
N° XXII (sang total)
FOLIN - courbe sur plasma.

TYPE C

Une autre hypothèse peut expliquer cette durée si variable de la vague aminée suivant un repas d'épreuve : alors que le glycose s'absorbe par simple osmose, les albuminoïdes traversent l'épithélium iléal par un mécanisme dont l'histologie nous laisse deviner la complexité. C'est cette complexité qui expliquerait les variantes considérables entre la durée d'absorption des diverses parois intestinales.

Enfin il ne faut pas oublier que, sur des graphiques comportant un petit nombre de points, il suffit d'une erreur pour modifier profondément l'allure de la courbe. Bien que la méthode à la B naphtoquinone soit incontestablement la plus pratique, la plus facile à manier, elle ne peut donner que des résultats assez approximatifs; remarquables si l'on envisage la difficulté du problème abordé, mais laissant parfois place à l'erreur.

Comment interpréter autrement que par une erreur les résultats donnés par Folin dans sa table II (page 403 du vol. 51 du *Biol. ch.*).

On peut y lire pour la même prise de sang 94 m. pour le plasma et 76 m. pour le sang total. Deux heures plus tard chez le même sujet la teneur en aminoacides du plasma serait descendue de 94 à 72, alors que celle du sang total serait brusquement montée de 76 à 117 ! Cette étrange et brusque charge des globules en azote aminé, sur un total de 6 courbes, ne se serait produite qu'une fois.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

La connaissance exacte de l'aminoacidémie serait le meilleur élément d'appréciation de la valeur du métabolisme des matières protéiques dans l'économie.

Malheureusement le taux des acides aminés dans le sang est faible, les techniques pour les doser délicates et les chiffres publiés déconcertent par leur diversité.

Cette diversité tient sans doute, pour une part, aux différents procédés de désalbumination, certains déféquants fixant ou retenant par adsorbtion des quantités variables d'azote aminé.

Folin a donné une technique de dosage d'une remarquable simplicité.

En appliquant cette technique nous avons bien trouvé des chiffres du même ordre de grandeur que ceux donnés par son auteur; toutefois l'emploi de l'acide tungstique comme déféquant nous a paru peu favorable.

Par le système tampon qu'il forme il constitue une difficulté pour l'alcalinisation.

Nous avons alors abandonné la défécation tungstique en la remplaçant par la défécation trichloracétique, nous avons également modifié la prise de sang en le prélévant par piqûre de la pulpe des doigts.

Cette technique permettant d'opérer des prises nombreuses et rapprochées nous a rendu possible de suivre l'hyperaminoacidémie provoquée par l'ingestion d'un repas de peptone.

Les résultats traduisent par des courbes l'existence d'une vague d'hyperaminoacidémie suivant la prise de notre repas d'épreuve.

Nous avons trouvé des chiffres très élevés chez certains hépatiques graves.

De même les diabétiques avec acidose donnent des chiffres élevés ou des réactions nettement anormales.

Par contre ces mêmes diabétiques avec dénutrition, traités par l'insuline, ne semblent plus réagir d'une façon anormale au repas de peptone. Ils deviennent ainsi comparables aux dia-

bétiques sans dénutrition, lesquels donnent des chiffres presque normaux.

Nos chiffres sont dans l'ensemble plus élevés que ceux publiés par Folin, ce que nous avons attribué à l'emploi de l'acide trichloracétique comme déféquant.

Par contre nos courbes ont gardé une très étroite parenté de forme avec celles de l'auteur américain.

Certains de ces chiffres peuvent néanmoins paraître paradoxaux.

La technique de l'hyperaminoacidémie provoquée, un peu délicate pour être d'une application courante en clinique, doit pouvoir fournir aux biochimistes de précieux renseignements sur les troubles du métabolisme azoté.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
LABBÉ.

Vu : *Le Doyen.*
G.-H. ROGER.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
P. LAPIE

BIBLIOGRAPHIE

Abderhalden. — Présence de la tyrosine dans l'urine d'un diabétique, *Hofmeiters Beitrage*, **6**, p. 376.

Abderhalden et Bergell. — L'urine de l'intoxication phosphorée, *Zeitsch. f. phys. Chem.*, **39**, p. 464.

Abderhalden et Schittenhelm. — Les acides aminés dans l'urine normale, *Zeitsch. f. phys. Chem.*, **47**, p. 339.

Bingel. — *Zeitsch. f. phys. Chem.*, **57**, p. 382, 1908.

Bith. — L'aminoacidurie, *Thèse de Paris*, 1913.

Blau (R.-F.). — The aminoacid nitrogen of blood III. A study of the occurence of peptide nitrogen in the blood, *J. of biol. chem.*, 1923, **56**, p. 873, 879.

Bock (J.-L.). — The estimation of aminoacid nitrogen in blood, *J. of biol. chem.*, 1916, 1917, **28**, p. 357, 368.

Bock (J.-L.). — The aminoacid nitrogen content of the blood of various species, *J. of biol. chem.*, 1917, **29**, p. 191-198.

Cary (C.-A.). — The aminoacid content of blood from the jugular and mamary vein of milking corws, *Proc. of the am. soc. of biol. chem. th. annual necting*, **29**, 31 déc. 1919; *in journal of biol. chem*, 1920, **41**, p. 39.

Chauffard. — A propos des variations de la teneur azotée du sérum des hépatiques, *Bull. soc. méd. des hôp.*, p. 75, 1913.

Cristol (P.). — Étude sur la désalbumination du sérum sanguin et des liquides albuminés, *Bull. soc. Union de France*, sect. de Montpel., juin 25.

Cristol (P.). — Le dosage de l'azote total non protéique du sérum. Étude comparée de la désalbumination trichloracétique et métaphosphorique, *Bull. soc. chim. biol.*, 1922, **4**, p. 267, 271.

Cristol (P.). — Étude de la désalbumination du sang et des humeurs en vue du dosage total non protéique et de son explication en physiopathologie, p. 75, 80, Maloine, édit.

Delaunay. — Rôle des acides aminés dans l'organisme animal, *Thèse de Bordeaux*, 1910).

Delaunay. — Les acides aminés (Revue générale), *Biol. méd.*, fév. 1911.

Delaunay. — Élimination urinaire de l'azote, *Biol. méd.*, nov. 1911.

Delaunay. — *C. R. Soc. Biol.*, 21 mars 1913, p. 670; 18 avril 1913, p. 767.

Delaville (M.) et Jones (L.-M.). — Dosage de l'acide urique dans le sang, *Bull. soc. chim. biol.*, 1925, **7**, p. 785, 796.

Erben. — Les aminoacides dans les maladies aiguës, *Zeitsch. v. phys. chem.*, **43**, p. 320.

Folin (O.). — Note on the necessity of checking of the qualité of sodium tungstate useed in the system of blood analysis, *J. of biol. chem.*, 1922, **51**, p. 419, 420.

Folin (O.). — A system of blood analysis suppl. III. A new. colorimétric méthod for the determination of the aminoacid nitrogen in blood, *J. of biol. chem.*, 1922, **51**, p. 377, 389.

Folin and Bergblund (H.). — The retention and distribution of aminoacids with especial reference to the urea formation, *J. of biol. chem.*, 1922, **51**, p. 395, 418.

Fuchs. — Variations des acides aminés à la suite des grandes pertes de sang, *Zeitsch. f. phys. chem.*, **49**, p. 482.

Greenwald (J.). — The estimation of non protein nitrogen in blood, *J. of biol. chem.*, 1918, **34**, p. 97, 101.

Guillaume (Ch. O.). — Remarques sur la défécation du sang par les acides tungstiques métaphosphoriques ou trichloracétiques, *C. R. Soc. Biol.*, 1921, **85**, p. 1943.

Jacks. — Présence des acides aminés dans les urines pathologiques, *Zeitsch. fur Klin. méd.*, **47**, p. 1; **50**, p. 167.

Labbé et Bith. — L'aminoacidurie chez les diabétiques (Congrès de Lyon, 1911), *Soc. de Biol.*, 17 octobre, 1911.

Labbé et Bith. — L'aminoacidurie, signe d'insuffisance hépatique, *Soc. méd. hop.*, 1er août 1912.

Labbé et Bith. — *C. R. Soc. Biol.*, 20 juillet 1912; 17 octobre 1912.

Labbé et Bith. — De l'aminoacidémie, *Soc. m. hôp.*, 28 nov. 1913.

Labbé et Bith. — Diagnostic de l'acidose, *Presse méd.*, p. 1061, 1912.

H. Labbé et Debré. — *C. R. Soc. biol.*, p. 563, 21 mars 1913.

Lambling. — Précis de biochimie, p. 239-243.

Loeper (M.). Ollivier (J.) et Lesure (A.). — Variations de l'aminoacidémie chez les mélanodermiques, *C. R. Soc. biol.*, 1915, **93**, p. 1290.

Loeper, Decourt, Lesure. — Passage dans le sang des aminoacides contenus dans les exsudats, *C. R. Soc. biol.*, nov. 1925; 12 déc. 1925.

Mancini. — Sur l'aminoacidurie alimentaire, *Archiv. de farmacia sperimenti*, **6**, p. 336.

Masuda. — Sur la présence des aminoacides dans les maladies du foie et de la nutrition, *Zeitsch. f. experiment. path. in ther.*, **8**, p. 1629.

Okada (S.). — On the estimation of aminoacid nitrogen in blood, *J. of biol. chem.*, 1918, **33**, p. 325-331.

Okada (S.) and Hayashi (I.). — Studies on the aminoacid nitrogen content of the blood, *J. of biol. chem.*, 1918, **33**, p. 325.

Petitjean (F.). — Remarques sur les manipulations préparatoires au dosage des acides aminés dans le sang, *Bull. soc. chim. biol.*, 1922, **4**, p. 108, 114.

Van Slyke (D.-D.) and Meyer (G.-M.). — The aminoacid nitrogen of the blood. Preliminary experiments on protein assimilation, *J. biol chem.*, 1911, **10**, p. 185; 1912, **12**, p. 399, 410.

Van Slyke. — *J. of biol. chem.*, **9**, p. 185, 204.

TABLE DES MATIÈRES

Pages.

INTRODUCTION 11

1re PARTIE

Les acides aminés, leur rôle dans le métabolisme azoté 13

2e PARTIE

Les méthodes de dosage, étude critique de la méthode de Folin. 16
CHAPITRE Ier. — Exposé des méthodes 16
— II. — Importance de la désalbumination 18
— III. — La méthode de Folin 20
— IV. — Influence de l'alcalinite 25
— V. — Action de l'oxalate de soude 29
— VI. — Influence de l'indicateur coloré 32

CONCLUSIONS 35

3e PARTIE

Essais d'aminoacidémie provoquée 37
CHAPITRE Ier. — Technique à l'acide tungstique 37
— II. — Technique à CCl^3COOH 42
— § Ier. — Aminoacidémie chez les hépatiques.
§ II. — Aminoacidémie chez les diabétiques
— III. — Absence d'identité de nos dosages et de ceux de Folin 52
— IV. — Identité de la forme générale de nos courbes avec celles de Folin 54

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS 56

Paris. — Imp. Paul Dupont (Cl.). - 336.6.26.